

(12)特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局



(43) 国際公開日
2001年8月2日 (02.08.2001)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 01/54682 A1

(51) 国際特許分類 ⁷ :	A61K 31/12, 31/216, 31/352, 31/7004, A61P 25/00, 25/28, 9/10, 43/00, A23L 1/30, C07C 49/83, 49/255, 49/84, 49/573, 69/12	特願2000-308519 2000年10月6日 (06.10.2000) JP
(21) 国際出願番号:	PCT/JP01/00513	(71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 寶酒 造株式会社 (TAKARA SHUZO CO., LTD.) [JP/JP]; 〒 612-8061 京都府京都市伏見区竹中町609番地 Kyoto (JP).
(22) 国際出願日:	2001年1月26日 (26.01.2001)	(72) 発明者; および
(25) 国際出願の言語:	日本語	(75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 大野木宏 (OHNOGI, Hiromu) [JP/JP]; 〒617-0002 京都府向日市 寺戸町渋川16-A-406 Kyoto (JP). 白斐正宏 (SHIRAGA, Masahiro) [JP/JP]; 〒520-2133 滋賀県大津市野郷原 1-14-3-203 Shiga (JP). 小林英二 (KOBAYASHI, Eiji) [JP/JP]; 〒520-2153 滋賀県大津市一里山六丁目18-19 Shiga (JP). 李 施平 (LI, Tuo-Ping) [CN/JP]; 〒520-2133 滋賀県大津市野郷原1-4-3-207 Shiga (JP). 出口寿々 (DEGUCHI, Suzu) [JP/JP]; 〒520-2134 滋賀県大津市
(26) 国際公開の言語:	日本語	
(30) 優先権データ:	特願2000-19208 2000年1月27日 (27.01.2000) JP 特願2000-19331 2000年1月27日 (27.01.2000) JP 特願2000-254683 2000年8月24日 (24.08.2000) JP	

/統葉有/

(54) Title: REMEDIES

(54) 発明の名称: 治療剤

(57) Abstract: Remedies or preventives for diseases with a need for the enhancement of the production of nerve growth factor which contain as the active ingredient specific compounds having an activity of enhancing the production of nerve growth factor or salts thereof, agents for enhancing the production of nerve growth factor, or foods, drinks or feeds for enhancing the production of nerve growth factor; a method of enhancing the production of nerve growth factor which comprises administering the above compounds or salts thereof to mammals; and use of the above compounds or salts thereof in remedies or preventives for diseases with a need for the enhancement of the production of nerve growth factor, agents for enhancing the production of nerve growth factor, or foods, drinks or feeds for enhancing the production of nerve growth factor. Also, novel compounds having an activity of enhancing the production of nerve growth factor are provided.

(57) 要約:

本発明は、神経成長因子産生増強活性を有する特定の化合物またはその塩を有効成分として含有する神経成長因子産生増強を必要とする疾患の治療剤もしくは予防剤、神経成長因子産生増強剤、または神経成長因子産生増強用食品、飲料もしくは飼料；前記化合物またはその塩を哺乳動物に投与する神経成長因子産生の増強方法；ならびに神経成長因子産生増強を必要とする疾患の治療剤もしくは予防剤、神経成長因子産生増強剤、または神経成長因子産生増強用食品、飲料もしくは飼料の製造における前記化合物またはその塩の使用を提供する。また、神経成長因子産生増強活性を有する新規化合物を提供する。

WO 01/54682 A1



瀬田3-1-3-B-103 Shiga (JP), 西山英治 (NISHIYAMA, Eiji) [JP/JP]; 〒524-0102 滋賀県守山市水保町1411-7 Shiga (JP), 佐川裕章 (SAGAWA, Hiroaki) [JP/JP]; 〒525-0025 滋賀県草津市西洪川二丁目6-32 Shiga (JP), 加藤郁之進 (KATO, Ikunoshin) [JP/JP]; 〒611-0028 京都府宇治市南陵町1-1-150 Kyoto (JP).

(74) 代理人: 弁理士 細田芳徳 (HOSODA, Yoshinori); 〒540-0012 大阪府大阪市中央区谷町二丁目8番1号 大手前M2ビル 細田国際特許事務所内 Osaka (JP).

(81) 指定国 (国内): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, PL, PT,

RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW.

(84) 指定国 (広域): ARIPO 特許 (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), ユーラシア特許 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ特許 (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR), OAPI 特許 (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:
— 國際調査報告書

2 文字コード及び他の略語については、定期発行される各PCTガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

明 紹 書

治療剤

技術分野

本発明は神経成長因子產生増強作用を有する医薬、試薬、食品、飲料、または飼料に関する。

従来の技術

ヒトの知的機能、記憶、感情、行動などの精神活動の維持には神経細胞が主要な役割を担っている。これら精神活動の基になっている神経細胞の分化、生存、機能発現には、それぞれの神経細胞に特異的な神経栄養因子が必要であると考えられている。神経栄養因子のうち最初にその存在および機能が明らかにされたのが神経成長因子 (Nerve Growth Factor、以下NGFと略する) であり、現在では脳由来神経栄養因子 (Brain-derived-neurotrophic Factor)、ニューロトロフィン (Neurotrophin) - 3、ニューロトロフィン-4/5などが見出されている。

NGFは前脳基底部の大細胞性コリン作動性神経細胞の神経栄養因子であることから、アルツハイマー型痴呆症との関連が注目されている〔ファルマシア、Vol. 22、No. 2、147~151 (1986)、老年精神医学、Vol. 3、No. 6、751~758 (1986)〕。

アルツハイマー型痴呆症とは発育障害、巣症状、下肢の強直拘攣、てんかん様発作などの臨床を伴い、老人性プラーク、アルツハイマー原線維変化などの病理学的所見を見る疾患であり、老人性痴呆の一病型である。近年の高齢化社会で増加の傾向が見られ、重大な社会的関心が払われているが、これといった症状の改善法、治療法が見つかっていない。

アルツハイマー型痴呆症患者脳には、マイネルト基底核を中心とする前脳基底部に顕著な変性、コリンアセチル基転位酵素（CAT）活性の著しい低下が認められている〔Annu. Rev. Neurosci., Vol. 3, 77 (1980)〕。1985年にラット脳を用いた研究で、NGFが脳のこの部位での神経栄養因子であることが明らかにされ〔EMBO J., Vol. 4, 1389 (1985)〕、NGFと本疾患との関連が注目された。またハンチントン舞蹈疾患者の脳の線条体では、GABA作動性神経細胞の脱落と共にコリン作動性神経細胞の脱落が著しく、NGFが線条体の内在性コリン作動性神経細胞にも作用することが明らかにされ〔Science, Vol. 234, 1341 (1986)〕、本疾患がNGFと関連している可能性が指摘されている。各種の神経疾患のモデルとなり得るラットなどの動物でNGFの効果が研究され、ラットでは神経細胞の変性が顕著になる以前にNGFを脳内投与すれば、変性を食い止めることができ、CAT活性の低下も防げることが報告されている〔J. Neurosci., Vol. 6, 2155 (1986)、Brain Res., Vol. 293, 305 (1985)、Science, Vol. 235, 214 (1986)、Proc. Natl. Acad. Sci. USA, Vol. 83, 9231 (1986)〕。末梢の交感神経支配組織および脳でNGFが合成されていること、このNGFの合成に末梢組織あるいは脳組織の間質細胞である線維芽細胞あるいはアストログリア細胞が各々重要な役割を担っていることも証明されている〔J. Biol. Chem., Vol. 259, 1259 (1984)、Biochem. Biophys. Res. Commun., Vol. 136, 57 (1986)〕。また、この線維芽細胞やアストログリア細胞の産生するNGFの抗原性、分子量、等電点、生物活性は、従来よく研究されていた顎下腺NGFと同一であることが明らかにされるとともに、線維芽細胞（L-M細胞）およびアストログリア細胞の培養液に種々の神経伝達物質を加える実験によって、カテコールアミン類（ノルエピネフリン、エピネフリン、ドーパミン）がNG

F産生増強作用を示すことが見出されている〔J. Biol. Chem., Vol. 201, 6039 (1986)〕。

NGFは、NGFが神経栄養因子として作用する部位が変性する神経疾患において、変性を食い止める治療薬として用いることができるのではないかと期待される。また、脳血管障害、脳腫瘍、脳炎、頭部外傷変性疾患、麻酔薬物中毒など脳神経細胞が一旦変性に陥れば、生涯回復することができなく、その結果、知的機能低下、記憶障害のみならず、感情障害、行動異常など様々な障害を引き起こすが、神経線維には可塑性があり、損傷を受けると、その付近の健常な線維から発芽が起こり、傷害されたシナプスに変わって新しいシナプスが形成されるので、この時NGFを神経機能の修復再生を促す治療剤として用いることができるのではないかと期待される。

しかしながら、NGFを各種神経疾患の治療に応用しようとした場合、NGFはNGFを必要とする神経細胞の極く近傍に達していかなければならぬし、中枢神経疾患の場合も脳細胞の患部にNGFを送り届けなければならないが、血管系を通してNGFを脳内に送り込むことはできない。なぜならば、脳内の血管内皮細胞は、互いに密着結合で結合しており（脳血液閥門という）、水、ガス、脂溶性物質以外の物質の血液から脳組織への移行は制限を受けており、高分子物質であるタンパク質（NGFも含む）はまったく脳血管閥門を通過することができないからである。このNGFを直接脳内に外科的手法を用いて投入することは、現在の技術をもってしても危険が大き過ぎる。

一方、直接、NGFを投与するのではなく、NGFの産生を増強する物質の開発も行われている。NGF産生増強作用を示す物質としては前記カテコールアミン類以外にもカフェイン酸や、4位に置換基が導入されたカテコール類、たとえば、代表的な化合物として4-メチルカテコールが知られており（特公平第5-29207号公報）、その他、特開平第2-104568号公報、日本国特許第2719042号明細書、特開平第8-27086号公報および特公平第7-1

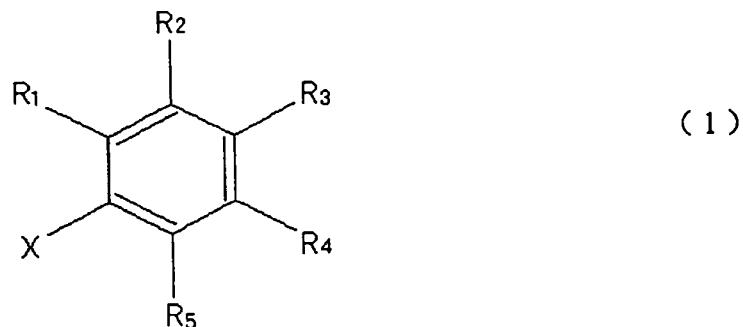
10812号公報にNGF産生増強活性を有する化合物が開示されている。しかしながら、その多くは、急性毒性を示すなど、強い毒性を有する物質、毒性が出る濃度と有効な濃度が非常に接近した物質、または神経興奮作用など神経系に対して重大な副作用を生じる物質（たとえば、前記カテコールアミン類は代表的なアドレナリン作動薬として知られている）であり、また、NGF産生増強活性を示す有効な濃度範囲が狭く投与量のコントロールも難しいなど、多くの問題点を抱えている。たとえば、特公平第7-110812号公報に開示された物質についてはNGF産生増強活性と化合物濃度との間には二峰性の関係が示されており、医薬として使用するには投与量のコントロールが難しい。また、特開平第2-104568号公報、日本国特許第2719042号明細書、特開平第8-27086号公報で開示された化合物のNGF産生増強活性が確認された濃度はそれぞれ1点のみであり、活性を示す有効濃度範囲については不明である。このように種々の問題が存在しており、NGF産生増強作用を示す物質は未だ実用化には至っていない。

発明の開示

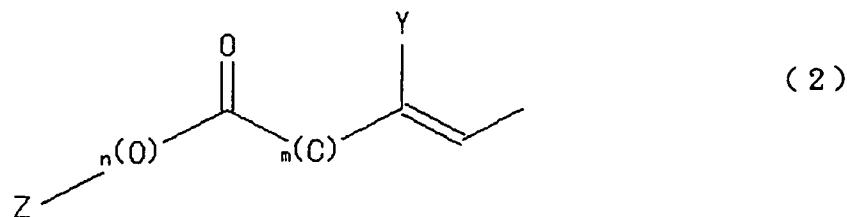
本発明者らは銳意検討した結果、下記一般式（1）で表される化合物が、公知のNGF産生増強作用を有する化合物より、1) 低濃度でより強い増強活性を示す、2) 増強活性を示す濃度領域が広い、および／または3) 低毒性である、との特徴を有することを見出し本発明を完成した。

本発明を概説すれば、本発明は

〔1〕 下記一般式（1）で表される化合物：

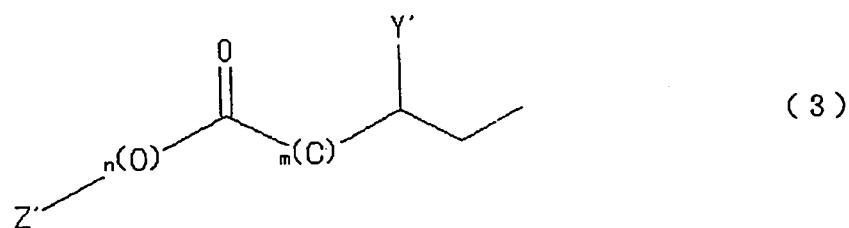


(式中、R₁、R₂、R₃、R₄ およびR₅ は各々同じであっても異なってもよ
く、水素原子、水酸基、アルコキシ基またはアシルオキシ基であり；
Xは、下記一般式（2）：



(式中、Zは水素原子または特性基が導入されていてもよい脂肪族基、芳香族基
もしくは芳香脂肪族基であり、Yは水素原子または水酸基であり、mおよびnは
各々0または1である。)、

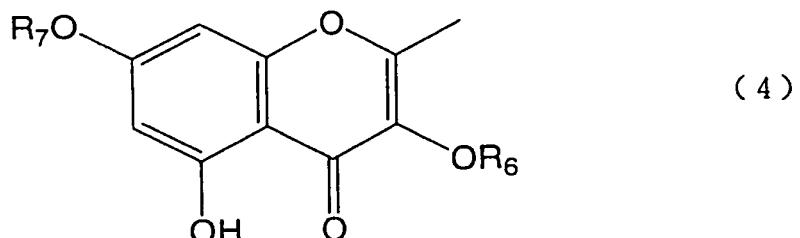
下記一般式（3）：



(式中、Z'は水素原子または特性基が導入されていてもよい脂肪族基、芳香族

基もしくは芳香脂肪族基であり、Y'は水素原子または水酸基であり、mおよびnは各々0または1である。）、

または下記一般式(4)：



(式中、R₆およびR₇は各々同じであっても異なってもよく、水素原子、糖残基、または特性基が導入されていてもよい脂肪族基、芳香族基もしくは芳香脂肪族基である。)

で表される。ただし、前記一般式(1)において、R₁、R₄およびR₅が共に水素原子、R₂およびR₃が共に水酸基、Xが前記一般式(2)であり、かつ該一般式(2)において、nが1、mが0、ZおよびYが水素原子である場合を除く。)

および薬理学的に許容されるそれらの塩からなる群より選択される少なくとも1種の化合物を有効成分として含有することを特徴とする神経成長因子産生増強を必要とする疾患の治療剤または予防剤、

(2) 前記〔1〕において記載の一般式(1)で表される化合物および薬理学的に許容されるそれらの塩からなる群より選択される少なくとも1種の化合物を有効成分として含有することを特徴とする神経成長因子産生増強剤、

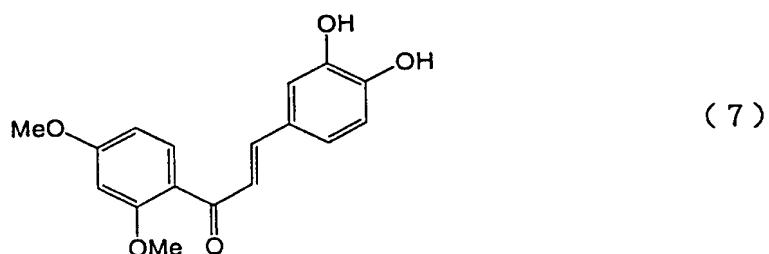
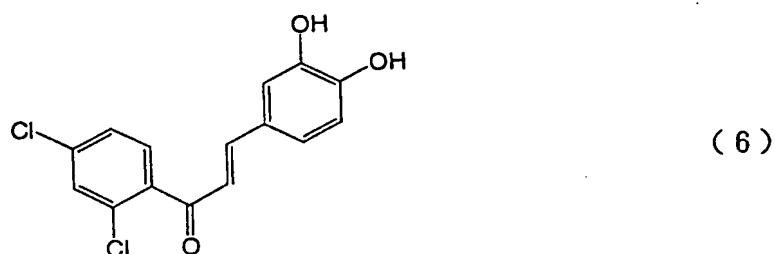
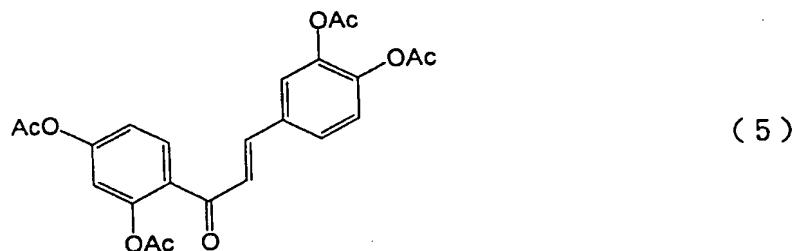
(3) 前記〔1〕において記載の一般式(1)で表される化合物および薬理学的に許容されるそれらの塩からなる群より選択される少なくとも1種の化合物を動物に投与することを特徴とする神経成長因子産生の増強方法、

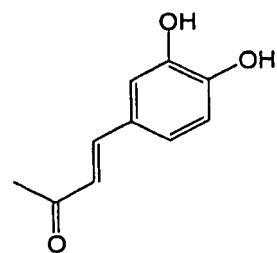
(4) 前記〔1〕において記載の一般式(1)で表される化合物およびそれら

の塩からなる群より選択される少なくとも1種の化合物を有効成分として含有することを特徴とする神経成長因子産生増強用食品、飲料または飼料。

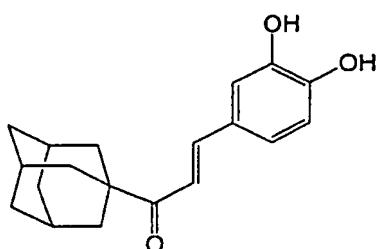
(5) 神経成長因子産生増強を必要とする疾患の治療剤もしくは予防剤、神経成長因子産生増強剤、または神経成長因子産生増強用食品、飲料もしくは飼料の製造における前記(1)において記載の一般式(1)で表される化合物およびそれらの塩からなる群より選択される少なくとも1種の化合物の使用、ならびに

(6) 下記式(5)～(12)で表わされる化合物：

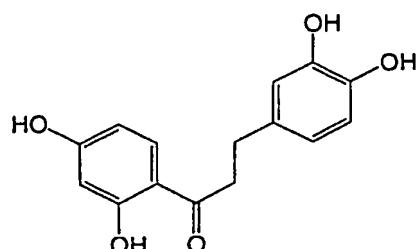




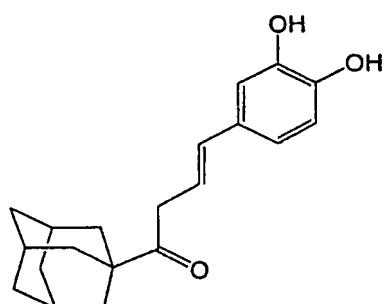
(8)



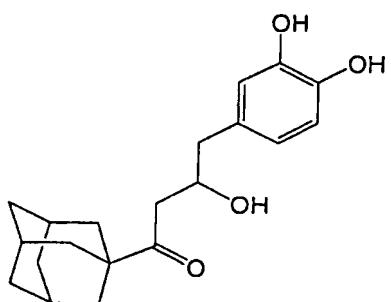
(9)



(1 0)



(1 1)



(1 2)

からなる群より選択される化合物、

に関する。

図面の簡単な説明

第1図は、化合物(5)の¹ H-NMRスペクトルを示す図である。

第2図は、化合物(6)の¹ H-NMRスペクトルを示す図である。

第3図は、化合物(7)の¹ H-NMRスペクトルを示す図である。

第4図は、化合物(8)の¹ H-NMRスペクトルを示す図である。

第5図は、化合物(9)の¹ H-NMRスペクトルを示す図である。

第6図は、化合物(10)の¹ H-NMRスペクトルを示す図である。

第7図は、化合物(11)の¹ H-NMRスペクトルを示す図である。

第8図は、化合物(12)の¹ H-NMRスペクトルを示す図である。

第9図は、化合物(27)の¹ H-NMRスペクトルを示す図である。

発明を実施するための最良の形態

本発明で有効成分として使用される化合物は、上記一般式(1)で表される化合物およびそれらの塩からなる群より選択される少なくとも1種の化合物であり、NGF産生増強作用を有していれば特に限定されない。かかる塩としては薬理学的に許容される塩が好ましい。また、後述するようにプロドラッグとして機能し得る当該化合物の誘導体であってもよい。従って、本発明に係る有効成分とは、前記一般式(1)で表わされる化合物およびそれらの塩、ならびに本発明の所望の効果が得られ得る限り前記一般式(1)で表わされる化合物の誘導体ならびにそれらの塩をも包含するものである。

なお、本明細書において、「NGF産生増強活性」および「NGF産生増強作用」はそれぞれNGF産生を増強する機能およびNGF産生増強をもたらすことをいうが、その意味において特に厳密に区別するものではない。また、「増強」には、本発明に係る有効成分の作用前に比し、作用後において目的物質の量が増

加するという態様と共に、本発明に係る有効成分を作用させることにより目的物質を生起せしめるという態様（誘導）を含む。

有効成分として用いられる前記一般式（1）で表わされる化合物の好適な例としては、3-フェニル-2-プロパン-1-オン骨格を有する化合物、3-フェニルプロパン-1-オン骨格を有する化合物、4-フェニル-3-ブテン-1-オン骨格を有する化合物および4-フェニルブタン-1-オン骨格を有する化合物などが挙げられる。なお本明細書では、3-フェニル-2-プロパン-1-オン骨格または4-フェニル-3-ブテン-1-オン骨格を有する化合物、たとえば、前記式（5）または式（11）に記載の化合物の構造を、その二重結合部位の立体配置をトランス体として表しているが、本発明において使用される化合物は特にトランス体に限定されず、NGF産生増強活性を有していればシス体であってもよい。また、NGF産生増強活性を有する限り、その他の前記一般式（1）で表わされる化合物の光学異性体、ケト-エノール互変異性体、幾何異性体などの各種異性体も全て本発明において使用することができ、さらに、各異性体の単離されたものであっても、その混合物であってもよい。

前記一般式（1）～（4）における各置換基について説明する。本明細書において、アルコキシ基とはR₁OHで表すことができる。ここで、当該R₁としては、メチル基、エチル基、n-プロピル基などの炭素数1～30の直鎖状アルキル基、イソプロピル基、イソブチル基、sec-ブチル基、tert-ブチル基、イソペンチル基、ネオペンチル基、tert-ペンチル基などの分枝状アルキル基、エテニル基、アリル基、トランス-1-プロペニル基、シス-1-プロペニル基、シス-8-ヘプタデセニル基、シス-8-シス-11-ヘプタデカジエニル基、シス-8-シス-11-ヘプタデカトリエニル基、シス-5-シス-8-シス-11-ヘプタデカトリエニル基、シス-4-シス-7-シス-10-ノナデカトリエニル基、シス-4-シス-7-シス-10-シス-13-ノナデカテトラエニル基、シス-4-シス-7-シス-10-シス-13-シス-16

－ノナデカヘプタエニル基、シス－1,2－ヘンイコセニル基、シス－3－シス－6－シス－9－シス－1,2－シス－1,5－シス－1,8－ヘンイコヘキサエニル基などの直鎖状アルケニル基、イソプロペニル基、シス－1－メチル－1－プロペニル基、トランス－1－メチル－1－プロペニル基、トランス－1－メチル－1－プロペニル基、トランス－1－エチル－1－プロペニル基などの分枝状アルケニル基、後述の芳香族基などが挙げられる。本発明の所望の効果の発現の観点から、かかるアルコキシ基の好適な例としては、メトキシ基、エトキシ基、アリルオキシ基、フェノキシ基などが挙げられる。

また、本明細書において、アシルオキシ基とは $R_{11}COO-$ で表すことができる。ここで、当該 R_{11} としては前記 R_1 として例示した基を挙げることができる。かかるアシルオキシ基の好適な例としては、アセトキシ基、プロピオニルオキシ基、ベンゾイルオキシ基などが例示される。

本明細書において、脂肪族基の好適な例としては前記 R_1 として例示した基を挙げることができる。

本明細書において、芳香族基の好適な例としては、たとえば、フェニル基、ナフチル基、ビフェニル基の他、ピロリル基、ピリジル基、インドリル基、イミダゾリル基、トリル基、キシリル基などが挙げられる。

本明細書において、芳香脂肪族基の好適な例としては、たとえば、アルキル基の炭素数が1～15であるフェニルアルキル基（例、ベンジル基、フェネチル基）、スチリル基、シンナミル基などが挙げられる。

なお、NGF産生増強活性を有していれば、上記脂肪族基、芳香族基、芳香脂肪族基には水酸基、チオール基、オキソ基、チオキソ基、アミノ基、ニトロ基、硫酸基、リン酸基、アルコキシ基、ハロゲン原子、アシルオキシ基、アシルチオキシ基などの特性基が導入されていても構わない。

さらに、本明細書において、糖残基としては糖の水酸基を1つ除去した構造式で表わすことができる基を挙げることができる。当該糖として好ましくは、单糖

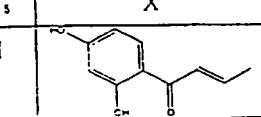
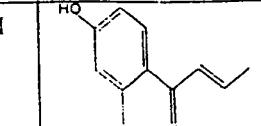
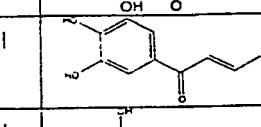
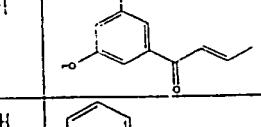
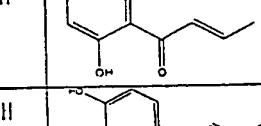
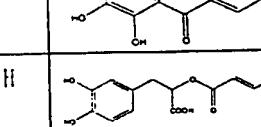
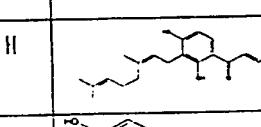
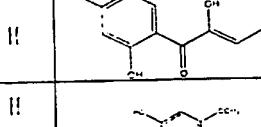
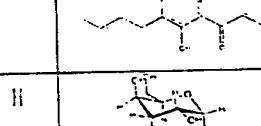
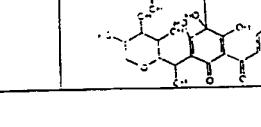
の他、たとえば、2～20残基の单糖からなるオリゴ糖または21残基以上の单糖からなる糖鎖であっても構わない。また、糖を構成する单糖成分に限定はなく、たとえば、D-グルコース、D-フルコトース、L-ラムノース、ガラクトース、マンノースの他、D-ガラクトサミン、2-デオキシ-D-リボースなどが挙げられる。なお、糖を構成する单糖成分において、D体、L体などの立体構造による限定は特にない。

本発明で使用される化合物は上記一般式(1)で表すことができるが、好適には表1および表2に示す化合物および式(26)で表すキサントフモール、式(27)で表すサフロミンAが例示される。かかる表において例示される化合物は、前記一般式(1)においてXが前記一般式(2)または(3)である化合物である。なお、表1および表2中のR₁、R₂、R₃、R₄、R₅およびXは上記一般式(1)に対応するものである。また、式(N)の化合物を化合物(N)という。たとえば、表1において、式(5)の化合物は化合物(5)という。

表 1

	名称	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	X
化合物(5)	3, 4, 2', 4'-Tetraacetyl butein	H	OAc	OAc	H	H	
化合物(6)	3, 4-Dihydroxy-2', 4'-dichloro chalcone	H	OH	OH	H	H	
化合物(7)	3, 4-Dihydroxy-2', 4'-dimethoxy chalcone	H	OH	OH	H	H	
化合物(8)	4-(3, 4-Dihydroxyphenyl)-3-butene-2-one	H	OH	OH	H	H	
化合物(9)	1-Adamantyl-3-(3, 4-dihydroxyphenyl)-2-propene-1-one	H	OH	OH	H	H	
化合物(10)	Dihydrobutein	H	OH	OH	H	H	
化合物(11)	1-Adamantyl-4-(3, 4-dihydroxyphenyl)-3-butene-1-one	H	OH	OH	H	H	
化合物(12)	1-Adamantyl-3-hydroxy-4-(3, 4-dihydroxyphenyl)butane-1-one	H	OH	OH	H	H	
化合物(13)	Butein	H	OH	OH	H	H	
化合物(14)	Isoliquiritigenin	H	H	OH	H	H	
化合物(15)	Caffeic acid phenylethyl ester	H	OH	OH	H	H	
化合物(16)	Curcumin	H	OMe	OH	H	H	

表 2

	名称	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	X
化合物(17)	3,4,5,2',4'-Pentahydroxy chalcone	H	OH	OH	OH	H	
化合物(18)	3,4,2',5'-Tetrahydroxy chalcone	H	OH	OH	H	H	
化合物(19)	3,4,3',4'-Tetrahydroxy chalcone	H	OH	OH	H	H	
化合物(20)	3,4,3',5'-Tetrahydroxy chalcone	H	OH	OH	H	H	
化合物(21)	3,4,2'-Trihydroxy chalcone	H	OH	OH	H	H	
化合物(22)	3,4,2',3',4'-Pentahydroxy chalcone	H	OH	OH	H	H	
化合物(23)	Rosmarinic acid	H	OH	OH	H	H	
化合物(24)	Xanthoangelol	H	H	OH	H	H	
化合物(25)	α -hydroxybutein	H	OH	OH	H	H	
化合物(26)	Xanthohumol	H	H	OH	H	H	
化合物(27)	Safflorin A	H	H	OH	H	H	

また、本発明で有効成分として使用される好適な化合物としては、前記一般式(1)において、Xが前記一般式(4)である、その構造中にフラボノール(avonol)骨格を有する化合物を挙げることができる。かかる化合物としては、たとえば、前記一般式(1)において、R₁、R₄、R₅およびR₇が共に水素、R₂およびR₃が共に水酸基ならびにR₆が α -L-ラムノース残基で表わされるクエルシトリン(Quercitrin)、R₁、R₄、R₅、R₆およびR₇が共に水素、ならびにR₂およびR₃が共に水酸基で表わされるクエルセチン(Quercetin: 3, 3', 4', 5, 7-ペンタヒドロキシフラボンとも呼ばれる)、R₁、R₅、R₆およびR₇が共に水素、ならびにR₂、R₃およびR₄が共に水酸基ならびにR₆が α -L-ラムノース残基で表わされるミリセチン(Myracetin: 3, 3', 4', 5, 5', 7-ヘキサヒドロキシフラボンとも呼ばれる)、R₁、R₅およびR₇が共に水素、R₂、R₃およびR₄が共に水酸基ならびにR₆が α -L-ラムノース残基で表わされるミリシトリン(Myricitrin)を挙げることができる。

本発明において使用される化合物は、市販の化合物を利用できるほか、カルコン類、ベンズアルデヒド、ベンゼン環上の置換基として水酸基を有するベンズアルデヒド(たとえば2, 5-ジヒドロキシベンズアルデヒド)などのベンズアルデヒド類、クロマン類、桂皮酸、桂皮アルデヒドまたはカフェイン酸などを出発原料として公知の方法により適宜合成することができる。また、天然物として存在する場合は、たとえば植物(たとえば、明日葉、ベニバナ、ホップなど)などより常法に従って抽出し、精製することにより得ることができる。

特に、上記の表1および表2に示した化合物のうち、化合物(5)、化合物(6)、化合物(7)、化合物(8)、化合物(9)、化合物(10)、化合物(11)、化合物(12)は、本発明において新たに合成された新規化合物である。すなわち、本発明は、NGF産生増強活性を有する、これらの新規化合物をも提供するものである。これらの化合物は前記するようにいすれも公知の方法により合成することができる。

。

化合物(6)、(7)、(8)、(9)の合成法としては、特に限定はないが、たとえば、日本国特許第2913706号明細書に記載された公知の方法を用いることができる。すなわち、水酸化バリウムなどの塩基存在下、水酸基をテトラヒドロピラニルオキシ基で保護したヒドロキシベンズアルデヒドとメチルケトン基を有する化合物とをクライゼン縮合反応により縮合し、得られた縮合体のテトラヒドロピラニルオキシ基を酸触媒存在下、脱保護することにより得ることができる。なお、クライゼン縮合反応に際しては、テトラヒドロピラニルオキシ基による保護基の導入は行わなくてもよい。また、クライゼン縮合反応の触媒としては、塩基以外に塩化水素などの酸を用いることもできる。

化合物(12)の合成法としては、特に限定はないが、メチルケトン化合物をリチウムジイソプロピルアミド存在下、低温にてアルデヒド化合物とアルドール縮合させる方法を用いることができる。更に、化合物(12)の β 位の水酸基に適切な脱離基導入後、塩基などにより脱離反応させることにより、化合物(11)を合成することができる。また、上記に示すような、化合物(12)を経て、化合物(11)を合成する方法と同様の方法で、化合物(6)、(7)、(8)、(9)についても合成することもできる。

化合物(5)の合成法としては、特に限定はないが、化合物(13)をアセチル化することにより合成することができ、たとえば化合物(13)と無水酢酸とをアルカリ存在下で反応させることにより得ることができる。また、この時のアセチル基の供与体としては、酢酸クロライドなどの酢酸のハロゲン化物でもよい。

化合物(10)の合成法としては、特に限定はないが、たとえばパラジウムなどの触媒存在下、化合物(13)を含有するメタノールなどの溶媒に、水素ガスを添加することにより合成することができる。

前記一般式(1)で表わされる化合物の塩としては、たとえば、アルカリ金属塩、アルカリ土類金属塩、有機塩基との塩などが例示される。かかる塩としては

薬理学的に許容される塩が好ましい。なお、本発明において使用される薬理学的に許容される塩とは、生物に対して実質的に無毒であって、かつNGF産生増強活性を有する化合物の塩を意味する。当該塩としては、たとえば、ナトリウム、カリウム、カルシウム、マグネシウム、アンモニウムまたはプロトン化されたベンザチン（N, N' -ジーベンジルエチレンジアミン）、コリン、エタノールアミン、ジエタノールアミン、エチレンジアミン、メグラミン（N-メチルグルカミン）、ベネタミン（N-ベンジルフェネチルアミン）、ピペラジンもしくはトロメタミン（2-アミノ-2-ヒドロキシメチル-1, 3-プロパンジオール）との塩が挙げられる。これらの塩は、たとえば前記一般式（1）で表される化合物においてXが前記一般式（2）または（3）であって、nが1、mが0、ZまたはZ'が水素原子、YまたはY'が水素原子で表されるカルボン酸を公知の方法により変換することにより得られる。また、たとえば、前記一般式（1）で表わされる化合物においてXが前記一般式（4）である場合には、当該化合物中のフェノール性水酸基を公知の方法により塩に変換することで得られる。

さらに、本発明において使用される前記一般式（1）で表わされる化合物は、たとえば、エステルとすることができますなど、体内で容易に加水分解し、所望の効果を発揮し得る誘導体（プロドラッグ）を形成可能である。かかるプロドラッグの調製は公知の方法に従えばよい。なお、かかる誘導体は、それらの塩であってもよい。

本発明において有効成分として使用される前記一般式（1）で表わされる化合物およびそれらの塩は、前記するように、いずれのものもNGF産生増強活性を有するものである。当該活性は、たとえば、後述の参考例1に示す方法に準じて評価することができる。また、後述の実施例から明らかなように、有効成分としての化合物は、公知のNGF産生増強活性を有する化合物より1) 低濃度でより強い増強活性を示す、2) 増強活性を示す濃度領域が広い、および/または3) 低毒性である、との特徴を有している。本発明において有効成分として使用する

化合物によれば、そのNGF産生増強活性により、たとえば、後述の実施例18において明らかにされているように、NGF産生増強を介して神経突起の伸長を促すという効果が奏され得、その他、活性酸素や栄養飢餓または物理的損傷などにより引き起こされる神経細胞死を抑えるという効果が奏される。それゆえ、たとえば、後述するようなNGF産生増強を必要とする疾患の治療または予防に有用であると考えられる。

本発明において有効成分として使用される前記一般式(1)で表わされる化合物は後述の参考例1として示す方法に準ずるスクリーニングの結果から見出されたものであり、それゆえ、本発明の一態様としては、NGF産生増強活性を有する化合物のスクリーニング方法も提供する。

本発明において有効成分として使用される化合物およびそれらの塩は、そのNGF産生増強活性にとっての有効量を生体に投与しても毒性は認められない。たとえば、経口投与の場合、たとえば、カルコン骨格を有する化合物であるブティン〔化合物(13)〕または薬理学的に許容されるその塩のいずれかを1000mg/kgでマウスに単回投与しても死亡例は認められない。また、フラボノール骨格を有する化合物であるミリセチンまたは薬理学的に許容されるその塩のいずれかを150mg/kgでマウスに単回投与しても死亡例は認められない。

本発明の第1の態様であるNGF産生増強を必要とする疾患の治療剤または予防剤としては、本発明に係る前記有効成分を公知の医薬用担体と組合せて製剤化したものが挙げられる。本発明の態様においては、有効成分としての塩は薬理学的に許容される塩が用いられる。

なお、本明細書においてNGF産生増強を必要とする疾患とは、たとえば、痴呆症、神経障害、末梢神経痛、脳虚血、糖尿病性ニューロパシーなどを挙げることができる。

本発明の治療剤または予防剤の製造は、通常、前記有効成分を薬理学的に許容される液状または固体状の担体と配合することにより行われ、所望により溶剤、

分散剤、乳化剤、緩衝剤、安定剤、賦形剤、結合剤、崩壊剤、滑沢剤などを加え、錠剤、顆粒剤、散剤、粉末剤、カプセル剤などの固形剤、通常液剤、懸濁剤、乳剤などの液剤とすることができる。また、使用前に適当な担体の添加によって液状となし得る乾燥品や、その他、外用剤とすることもできる。

医薬用担体は、治療剤または予防剤の投与形態および剤型に応じて選択することができる。固体組成物からなる経口剤とする場合は、錠剤、丸剤、カプセル剤、散剤、細粒剤、顆粒剤などとすることでき、たとえばデンプン、乳糖、白糖、マンニット、カルボキシメチルセルロース、コーンスターク、無機塩などが利用される。また経口剤の調製に当っては、更に結合剤、崩壊剤、界面活性剤、潤沢剤、流動性促進剤、嗜味剤、着色剤、香料などを配合することもできる。たとえば、錠剤または丸剤とする場合は、所望によりショ糖、ゼラチン、ヒドロキシプロピルセルロースなどの糖衣または胃溶性もしくは腸溶性物質のフィルムで被覆してもよい。液体組成物からなる経口剤とする場合は、薬理学的に許容される乳濁剤、溶液剤、懸濁剤、シロップ剤などとすることでき、たとえば、精製水、エタノールなどが担体として利用される。また、さらに所望により湿潤剤、懸濁剤のような補助剤、甘味剤、風味剤、防腐剤などを添加してもよい。

一方、非経口剤とする場合は、常法に従い本発明の前記有効成分を希釈剤としての注射用蒸留水、生理食塩水、ブドウ糖水溶液、注射用植物油、ゴマ油、落花生油、大豆油、トウモロコシ油、プロピレングリコール、ポリエチレングリコールなどに溶解ないし懸濁させ、必要に応じ、殺菌剤、安定剤、など強化剤、無痛化剤などを加えることにより調製される。また、固体組成物を製造し、使用前に無菌水または無菌の注射用溶媒に溶解して使用することもできる。

外用剤としては、経皮投与用または経粘膜（口腔内、鼻腔内）投与用の、固体ないし半固体状、半固体または液状の製剤が含まれる。また、座剤なども含まれる。たとえば、乳剤、ローション剤などの乳濁剤、外用チンキ剤、経粘膜投与液剤などの液状製剤、油性軟膏、親水性軟膏などの軟膏剤、フィルム剤、テープ

剤、パップ剤などの経皮投与用または経粘膜投与用の貼付剤などとすることができる。

以上の各種製剤は、それぞれ公知の医薬用担体などを利用して、適宜、常法により製造することができる。また、かかる製剤における有効成分の含有量は、その投与形態、投与方法などを考慮し、好ましくは後述の投与量範囲で当該有効成分を投与できるような量であれば特に限定されるものではない。

本発明の治療剤および予防剤は、その剤形に応じた適当な投与経路で投与することができる。投与方法には特に限定はなく、内用、外用および注射によることができる。注射剤は、たとえば静脈内、筋肉内、皮下、皮内などに投与し得、外用剤では、たとえば、座剤をその適する投与方法により投与すればよい。

本発明の治療剤または予防剤の投与量は、その剤形、投与方法、使用目的および当該治療剤または予防剤の投与対象である動物（たとえば、患者）の年齢、体重、症状によって適宜設定され一定ではない。たとえば、ヒトの場合、一般には製剤中に含有される前記有効成分の投与量が、好ましくは成人1日当たり0.1μg～200mg/kgとなるような量である。もちろん投与量は、種々の条件によって変動するので、上記投与量より少ない量で十分な場合もあるし、あるいは範囲を超えて必要な場合もある。投与は、所望の投与量範囲内において、1日内において単回で、または数回に分けて行ってもよい。

NGFは神経細胞に働き、神経突起の伸長、神経突起細胞の維持を行う。従って、本発明において使用される有効成分によりNGFの産生増強を行うことで、生体の神経系の維持と活性化をもたらすことができる。それゆえ、本発明の治療剤または予防剤は前記各種疾患の治療または予防に有用である。

本発明の第2の態様である本発明に係る前記有効成分を含むNGF産生増強剤は、前記有効成分そのものであってもよく、また、前記有効成分を含む組成物であってもよい。本発明の態様においては、有効成分としての塩は薬理学的に許容される塩が用いられる。NGF産生増強剤は、たとえば、前記有効成分を当該有

効成分と同じ用途に使用可能な他の成分などと配合し、上記治療剤または予防剤の製造方法に準じて通常使用される試薬の形態に製造すればよい。かかる増強剤における前記有効成分の含有量は、増強剤の投与方法、使用目的などを考慮し、本発明の所望の効果の発現が得られ得るような量であればよく、特に限定されるものではない。また、該増強剤の使用量も、本発明の所望の効果の発現が得られ得るようであれば特に限定されるものではない。特に、生体に投与して使用する場合、好ましくは前記治療剤または予防剤における有効成分の投与量範囲内で有効成分を投与できるような量で、該増強剤を使用すればよい。

本発明のNGF産生増強剤は、神経細胞活性化（たとえば、学習記憶能力の向上など）に使用することができる。また、該増強剤を用いて、後述のNGF産生増強方法により、神経細胞機構に関する生化学的研究や、痴呆症、神経障害薬のスクリーニングを行うこともできる。

本発明の第3の態様として、本発明に係る前記有効成分を動物に投与するNGF産生の増強方法を提供する。本発明の態様においては、有効成分としての塩は薬理学的に許容される塩が用いられる。かかる方法は、NGF産生の増強が必要であると予想される、または、その必要のある動物に対し、前記有効成分を、好ましくは、本発明のNGF産生増強剤として投与することにより行うことができ、かかる投与により、NGFの産生を増強せしめる。有効成分の投与方法、投与量などは、好ましくは前記NGF産生増強剤に準じればよい。なお、本発明の治療剤または予防剤、後述の食品、飲料または飼料をNGF産生増強剤と同様にして用いることもできる。

かかるNGF産生増強方法によれば、たとえば、当該方法により神経細胞を活性化させて、細胞内外の関連因子の動向の解析を行うことにより神経細胞機構に関する生化学的研究を行うことができる。また、かかるNGF産生増強方法により、痴呆症、神経障害薬等のスクリーニングを行うことができる。

本発明の第4の態様として、NGF産生増強用食品、飲料または飼料を提供す

る。かかる食品、飲料または飼料は、本発明に係る前記有効成分を含有してなるものである。本発明の態様においては、有効成分としての塩に、薬理学的に許容される塩、またはそれと同等の安全性を有する塩を好適に用いることができる。本発明の食品、飲料または飼料は、そのNGF産生増強作用により、当該有効成分に感受性を示す前記するようなNGF産生増強を要する各種疾患の症状改善、予防に極めて有用である。

なお、本発明の食品、飲料または飼料にいう「含有」の語は、含有、添加、希釈の意を含むものであり、含有とは食品、飲料または飼料中に本発明で使用される有効成分が含まれるという態様を、添加とは食品、飲料または飼料の原料に、本発明で使用される有効成分を添加するという態様を、希釈とは本発明で使用される有効成分に、食品、飲料または飼料の原料を添加するという態様をいうものである。

本発明の食品、飲料または飼料の製造法に特に限定はない。たとえば、配合、調理、加工などは一般の食品、飲料または飼料のものに従えばよく、かかる食品、飲料または飼料の製造法により製造することができ、得られた食品、飲料または飼料にNGF産生増強作用を有する本発明に係る有効成分が含有されていれば良い。

本発明の食品または飲料とは、特に限定はないが、たとえば、本発明に係る前記有効成分が含有されてなる、穀物加工品（小麦粉加工品、テンブン類加工品、プレミックス加工品、麵類、マカロニ類、パン類、あん類、そば類、麩、ビーフン、はるさめ、包装餅など）、油脂加工品（可塑性油脂、てんぷら油、サラダ油、マヨネーズ類、ドレッシングなど）、大豆加工品（豆腐類、味噌、納豆など）、食肉加工品（ハム、ベーコン、プレスハム、ソーセージなど）、水産製品（冷凍すりみ、かまぼこ、ちくわ、はんぺん、さつま揚げ、つみれ、すじ、魚肉ハム、ソーセージ、かつお節、魚卵加工品、水産缶詰、つくだ煮など）、乳製品（原料乳、クリーム、ヨーグルト、バター、チーズ、練乳、粉乳、アイスクリームな

ど)、野菜・果実加工品(ペースト類、ジャム類、漬け物類、果実飲料、野菜飲料、ミックス飲料など)、菓子類(チョコレート、ビスケット類、菓子パン類、ケーキ、餅菓子、米菓類など)、アルコール飲料(日本酒、中国酒、ワイン、ウイスキー、焼酎、ウォッカ、ブランデー、ジン、ラム酒、ビール、清涼アルコール飲料、果実酒、リキュールなど)、嗜好飲料(緑茶、紅茶、ウーロン茶、コーヒー、清涼飲料、乳酸飲料など)、調味料(しょうゆ、ソース、酢、みりんなど)、缶詰・瓶詰め・袋詰め食品(牛飯、釜飯、赤飯、カレー、その他の各種調理済み食品)、半乾燥または濃縮食品(レバーペースト、その他のスプレッド、そば・うどんの汁、濃縮スープ類)、乾燥食品(即席麺類、即席カレー、インスタントコーヒー、粉末ジュース、粉末スープ、即席味噌汁、調理済み食品、調理済み飲料、調理済みスープなど)、冷凍食品(すき焼き、茶碗蒸し、うなぎかば焼き、ハンバーグステーキ、シュウマイ、餃子、各種スティック、フルーツカクテルなど)、固体食品、液体食品(スープなど)、香辛料類などの農産・林産加工品、畜産加工品、水産加工品などが挙げられる。

本発明の食品または飲料中の前記有効成分の含有量は特に限定されず、その官能と活性発現の観点から適宜選択できるが、たとえば、食品100重量部当たり好ましくは0.0001重量部以上、より好ましくは0.001~10重量部であり、たとえば、飲料100重量部当たり好ましくは0.0001重量部以上、より好ましくは0.001~10重量部である。また、本発明の食品または飲料は、好ましくは、それらに含有される有効成分が、たとえば、成人1日当たり0.01~100mg/kgとなるように摂取すればよい。

また、本発明により、NGF産生増強活性を有する、本発明に係る前記有効成分を含有してなる生物用の飼料が提供される。また、本発明の別の一態様として、前記有効成分を生物に投与することを特徴とする生物の飼育方法が提供される。さらに、本発明の別の一態様として、前記有効成分を含有することを特徴とする生物飼育用剤が提供される。

これらの発明において、生物とはたとえば養殖動物、ペット動物などであり、養殖動物としては家畜、実験動物、家禽、魚類、甲殻類または貝類が例示される。飼料としては体調の維持および／または改善用飼料が例示される。生物飼育用剤としては浸漬用剤、飼料添加剤、飲料用添加剤が例示される。

これらの発明によれば、それらを適用する前記例示するような生物において、本発明に使用される前記有効成分のNGF産生増強活性に基づき、本発明の前記治療剤または予防剤によるのと同様の効果の発現が期待できる。すなわち、当該生物における痴呆症、神経障害の治療または予防効果の発現が期待できる。

本発明に使用される前記有効成分は通常、対象生物の体重1kg、1日当たり好ましくは0.01～2000mg投与される。投与は、たとえば、当該有効成分を、対象生物に供する人工配合飼料の原料中に添加混合しておくか、人工配合飼料の粉末原料と混合した後、その他の原料にさらに添加混合することで行うことができる。また、前記有効成分の飼料中の含有量は特に限定されるものではなく、目的に応じて適宜設定すれば良いが、0.001～15重量%の割合が適当である。

人工配合飼料としては、魚粉、カゼイン、イカミールなどの動物性原料、大豆粕、小麦粉、デンプンなどの植物性原料、飼料用酵母などの微生物原料、タラ肝油、イカ肝油などの動物性油脂、大豆油、菜種油などの植物性油脂、ビタミン類、ミネラル類、アミノ酸、抗酸化剤などを原料とする人工配合飼料が挙げられる。また魚肉ミンチなどの魚類用飼料が挙げられる。

本発明の飼料の製造方法に特に限定はなく、また配合も一般の飼料に準ずるものであればよく、製造された飼料中にNGF産生増強活性を有する本発明に係る有効成分が含有されていればよい。

また、NGF産生増強活性を有する本発明に係る前記有効成分をプール、水槽、保持タンクまたは飼育領域の水、海水などに直接、添加し、対象生物を浸漬することにより、投与することもできる。この浸漬方法は対象生物の飼料摂取量が

低下したときに特に有効である。水または海水中のNGF産生増強作用を有する本発明に係る有効成分の濃度は特に限定ではなく、目的に応じて使用すれば良いが、好ましくは0.00001～1重量%の割合が適当である。

また、NGF産生増強活性を有する本発明に係る前記有効成分を含有する飲料を飼育用飲料として対象生物に摂取させても良い。該飲料中のNGF産生増強作用を有する本発明に使用される有効成分の濃度は特に限定ではなく、目的に応じて使用すれば良いが、0.0001～1重量%の割合が適当である。

NGF産生増強作用を有する本発明に係る前記有効成分を含有する生物飼育用剤、たとえば浸漬用剤、飼料添加剤、飲料用添加剤はそれ自体公知の配合および製造方法で作製すれば良い。該生物飼育用剤における有効成分の含有量は、本発明の所望の効果が得られ得る限り特に限定されるものではない。

本発明が適用できる生物としては限定は無いが、養殖動物としては、馬、牛、豚、羊、山羊、らくだ、ラマなどの家畜、マウス、ラット、モルモット、ウサギなどの実験動物、鶏、アヒル、七面鳥、駝鳥などの家禽、マダイ、イシダイ、ヒラメ、カレイ、ブリ、ハマチ、ヒラマサ、マグロ、シマアジ、アユ、サケ・マス類、トラフグ、ウナギ、ドジョウ、ナマズなどの魚類、クルマエビ、ブラックタイガー、タイショウエビ、ガザミなどの甲殻類など、アワビ、サザエ、ホタテ貝、カキなどの貝類、ペット動物としてはイヌ、ネコなどが挙げられ、陸上・水中動物に広く適用できる。

NGF産生増強作用を有する本発明に使用される前記有効成分を含有する飼料を摂取させること、またはNGF産生増強作用を有する本発明に使用される前記有効成分の含有液に対象生物を浸漬することにより、家畜、実験動物、家禽、魚類、甲殻類、貝類、ペット動物などの体調を良好に維持し、または、改善させたりすることができる。

本発明の食品、飲料または飼料には本発明に係る前記有効成分が含有されており、そのNGF産生増強活性を発現するための必要量が含有されていれば特にそ

の形状に限定はない。たとえば、タブレット状、顆粒状、カプセル状などの形状の経口的に摂取可能な形状物も包含される。

さらに、本発明の第5の態様として、NGF産生増強を必要とする疾患の治療剤もしくは予防剤、NGF産生増強剤、またはNGF産生増強用食品、飲料もしくは飼料の製造における本発明に係る前記有効成分の使用を提供する。かかる使用の態様としては、本発明の前記治療剤もしくは予防剤、NGF産生増強剤、またはNGF産生増強用食品、飲料もしくは飼料の製造における前記有効成分の使用の態様を挙げることができる。たとえば、NGF産生増強を必要とする疾患の治療剤もしくは予防剤、またはNGF産生増強剤の製造における、前記有効成分の使用としては、前記のような錠剤、顆粒剤、散剤、粉末剤、カプセル剤などの固形剤、通常液剤、懸濁剤、乳剤などの液剤、また、使用前に適当な担体の添加によって液状となし得る乾燥品の製造においての使用が例示される。

本発明に係る有効成分は、後述の実施例から明らかであるように、公知のNGF産生増強活性を有する化合物と比較して、1) より低濃度でより強い増強活性を示す、2) 増強活性を示す濃度領域が広い、および/または3) 低毒性である、との特徴を有するものである。従って、当該有効成分を含有してなる、本発明の治療剤もしくは予防剤、または食品、飲料もしくは飼料は、NGF産生増強を必要とする疾患の治療または予防に有用である。また、前記有効成分を含有してなるNGF産生増強剤は、神経細胞機構に関する生化学的研究や、痴呆症、神経障害薬等のスクリーニングに有用である。

実施例

以下、製造例、実施例などを挙げて本発明を更に具体的に説明するが、本発明はこれらの実施例に何ら限定されるものではない。なお、製造例、実施例などにおける%は特段の事情がない限り重量%を意味する。

製造例1 ブテイン (Butein) [化合物(13)] の合成

2',4'-ジヒドロキシアセトフェノン (2',4'-Dihydroxy acetophenone; 東京化成製) 1 g (6.6 mmol)、3,4-ジヒドロキシベンズアルデヒド (3,4-Dihydroxy benzaldehyde; 東京化成製) 912 mg (6.6 mmol) およびピリジニウム p-トルエンスルホネート (Pyridinium p-toluensulfonate; 東京化成製) 80 mg (0.32 mmol) をジクロロメタン 26 mL に溶解し室温で 30 分間攪拌した後、3,4-ジヒドロ-2H-ピラン (3,4-Dihydro-2H-pyran; 東京化成製) 10 mL を添加し、室温で更に 3 時間攪拌した。反応液を水で 2 回洗浄し、減圧濃縮した後、得られた油状物質をメタノール 26 mL に溶解し、水酸化バリウム水和物 2.15 g を添加して 40 °C で約 20 時間攪拌した。反応液をメタノール 26 mL で希釈した後、1 規定の塩酸で pH を中性付近にした。反応液を酢酸エチルで抽出し、得られた有機層を飽和重曹水、10% クエン酸水、飽和塩化ナトリウム水溶液で順次洗浄した後、無水硫酸マグネシウムで乾燥し、減圧濃縮した。濃縮物をヘキサン : 酢酸エチル (容量比) = 5 : 1 を展開溶媒としたシリカゲル系カラム (富士シリシア化学(株) 製) を用いたクロマトグラフィー (以下、シリカクロマトという) に供することにより化合物(13)のテトラハイドロキシピラン (THP) 化体を得た。化合物(13)の THP 化体をメタノール 26 mL に溶解し、スルホサリチル酸無水物 (Sulfosalicylic acid dehydrate) 67 mg (0.264 mmol) を添加し、室温で 3 時間攪拌した。反応液を酢酸エチルで希釈した後、飽和塩化ナトリウム水溶液で洗浄、無水硫酸マグネシウムで乾燥し、減圧濃縮した。濃縮物からヘキサンと酢酸エチルにより化合物(13) 1 g (収率 56%) を再結晶した。化合物(13)の核磁気共鳴 (NMR) スペクトル、質量スペクトルをそれぞれ JNM-A500 (日本電子社製)、MS (DX302) 質量分析計 (日本電子社製) で分析し、その構造を決定した。NMR スペクトル、質量スペクトルの測定結果を以下に示す。

¹ H NMR : δ 6.26 (1H, d, J_{3',5'} 2Hz, H-3'), 6.38 (1H, dd, J_{5',6'} 9Hz, H-5'), 6.80 (1H, d, J_{5',6'} 8Hz, H-5), 7.19 (1H, dd, J_{2',6'} 2Hz, H-6), 7.26

(1H, d, H-2), 7.64 (2H, m, H- α , β), 8.12 (1H, d, H-6')

但し、サンプルは重ジメチルスルホキシドに溶解し、残留ジメチルスルホキシドの化学シフト値を2.49 ppmとして表した。

FAB-MS : m/z 273 (M+H) ⁺ (但し、グリセロールをマトリックスに用いた。)

)

製造例2 3,4,5,2',4'-ペンタヒドロキシカルコン (3,4,5,2',4'-Pentahydroxy chalcone) [化合物(17)] の合成

2',4'-ジヒドロキシアセトフェノン 0.5 g (2.9 mmol) と3,4-ジヒドロキシベンズアルデヒド 0.4 g (2.9 mmol) を出発材料とし、製造例1と同様の方法により、化合物(17) 600 mg (収率72%)を得た。NMRスペクトル、質量スペクトルの測定結果を以下に示す。

¹ H-NMR : 6.23 (1H, d, J_{3',5'} 2Hz, H-3'), 6.36 (1H, dd, J_{5',6'} 9 Hz, H-5'), 6.78 (2H, s, H-2, 6), 7.54 (2H, m, H- α , β), 8.07 (1H, d, H-6')

但し、サンプルは重ジメチルスルホキシドに溶解し、残留ジメチルスルホキシドの化学シフト値を2.49 ppmとして表した。

FAB-MS : m/z 289 (M+H) ⁺ (但し、グリセロールをマトリックスに用いた。)

)

製造例3 3,4,2',5'-テトラヒドロキシカルコン (3,4,2',5'-Tetrahydroxy chalcone) [化合物(18)] の合成

2',5'-ジヒドロキシアセトフェノン (2',5'-Dihydroxy acetophenone; 東京化成製) 497 mg (3.3 mmol) と、3,4-ジヒドロキシベンズアルデヒド 451 mg (3.3 mmol) を出発材料とし、製造例1と同様の方法により、化合物(18) 760mg (収率85%)を得た。NMRスペクトル、質量スペクトルの測定結果を以下に示す。

¹ H-NMR : δ 6.79 (1H, d, J_{5',6'} 8Hz, H-5), 6.81 (1H, d, J_{3',4'} 9Hz, H-3

'), 6.00 (1H, dd, $J_{4',6'}=3$ Hz, H-4'), 7.17 (1H, dd, $J_{2',6}=2$ Hz, H-6), 7.23 (1H, d, H-2), 7.44 (1H, d, H-6'), 7.55 (1H, d, $J_{\alpha,\beta}=15$ Hz, H- α), 7.66 (1H, d, H- β)

但し、サンプルは重ジメチルスルホキシドに溶解し、残留ジメチルスルホキシドの化学シフト値を2.49 ppmとして表した。

FAB-MS : m/z 273 (M+H)⁺ (但し、グリセロールをマトリックスに用いた。)

製造例4 3,4,3',4'-テトラヒドロキシカルコン (3,4,3',4'-Tetrahydroxy chalcone) [化合物(19)] の合成

3',4'-ジヒドロキシアセトフェノン (3',4'-Dihydroxy acetophenone; 東京化成製) 515 mg (3.4 mmol) と、3,4-ジヒドロキシベンズアルデヒド 468 mg (3.4 mmol) を出発材料とし、製造例1と同様の方法により、化合物(19) 272mg (収率30 %)を得た。NMRスペクトル、質量スペクトルの測定結果を以下に示す。

¹H-NMR : δ 6.78 (1H, d, $J_{5',6}=8$ Hz, H-5), 6.83 (1H, dd, $J_{5',6}=8$ Hz, H-5'), 7.11 (1H, dd, $J_{2',6}=2$ Hz, H-6), 7.18 (1H, d, H-2), 7.46 (1H, d, $J_{2',6}=2$ Hz, H-2'), 7.48 (2H, m, H- α , β), 7.54 (1H, dd, H-6')

但し、サンプルは重ジメチルスルホキシドに溶解し、残留ジメチルスルホキシドの化学シフト値を2.49 ppmとして表した。

FAB-MS : m/z 273 (M+H)⁺ (但し、グリセロールをマトリックスに用いた。)

)

製造例5 3,4,3',5'-テトラヒドロキシカルコン (3,4,3',5'-Tetrahydroxy chalcone) [化合物(20)] の合成

3',5'-ジヒドロキシアセトフェノン (3',5'-Dihydroxy acetophenone; 東京化成製) 816 mg (5.4 mmol) と、3,4-ジヒドロキシベンズアルデヒド 741 mg (5.4

mmol) を出発材料とし、製造例 1 と同様の方法により、化合物(20) 605mg (収率41 %) を得た。NMRスペクトル、質量スペクトルの測定結果を以下に示す。

¹ H-NMR : δ 6.45 (1H, dd, $J_{2',4'}=2$, $J_{4',6'}=2$ Hz, H-4'), 6.77(1H, d, $J_{5',6'}=8$ Hz, H-5), 6.87 (2H, d, H-2', 6'), 7.11 (1H, dd, $J_{2',6'}=2$ Hz, H-6), 7.18 (1H, d, H-2), 7.35 (1H, d, $J_{\alpha,\beta}=16$ Hz, H- α), 7.51 (1H, d, H- β)

但し、サンプルは重ジメチルスルホキシドに溶解し、残留ジメチルスルホキシドの化学シフト値を2.49 ppmとして表した。

FAB-MS : m/z 272 (M+H) ⁺ (但し、グリセロールをマトリックスに用いた。)

製造例 6 3,4,2'-トリヒドロキシカルコン (3,4,2'-Trihydroxy chalcone) [(化合物(21)] の合成

2'-ヒドロキシアセトフェノン (2'-Hydroxy acetophenone ; 東京化成製) 890 g (6.5 mmol) と、3,4-ジヒドロキシベンズアルデヒド 902 mg (6.5 mmol) を出発材料とし、製造例 1 と同様の方法により、化合物(21) 715mg (収率43 %) を得た。NMRスペクトル、質量スペクトルの測定結果を以下に示す。

¹ H-NMR : δ 6.81 (1H, d, $J_{5',6'}=8$ Hz, H-5), 6.98 (2H, m, H-3', 5'), 7.22 (1H, dd, $J_{2',6'}=8$ Hz, H-6), 7.29 (1H, d, H-2), 7.53 (1H, $J_{3',4'}=8$, $J_{4',5'}=8$, $J_{4',6'}=2$ Hz, td, H-4'), 7.71 (2H, m, H- α , β), 8.21 (1H, dd, $J_{5',6'}=8$ Hz, H- β)

但し、サンプルは重ジメチルスルホキシドに溶解し、ジメチルスルホキシドの化学シフト値を2.49 ppmとして表した。

FAB-MS : m/z 257 (M+H) ⁺ (但し、グリセロールをマトリックスに用いた。)

製造例 7 3,4,2',3',4'-ペンタヒドロキシカルコン (3,4,2',3',4'-Pentahydr

oxy chalcone) [化合物(22)] の合成

2',3',4' - トリヒドロキシアセトフェノン (2',3',4' -Trihydroxy acetopheno ne; 東京化成製) 605 mg (3.6 mmol) と、3,4-ジヒドロキシベンズアルデヒド 500 mg (3.6 mmol) を出発材料とし、製造例 1 と同様の方法により、化合物(22) 622mg (収率60 %) を得た。NMRスペクトル、質量スペクトルの測定結果を以下に示す。

¹ H-NMR : δ 6.41 (1H, d, $J_{5,6}$ 9Hz, H-5'), 6.80 (1H, d, $J_{5,6}$ 8Hz, H-5), 7.19 (1H, dd, $J_{2,6}$ 2Hz, H-6), 7.26 (1H, d, H-2), 7.64 (2H, m, H- α , β), 7.68 (1H, d, H-6')

但し、サンプルは重ジメチルスルホキシドに溶解し、残留ジメチルスルホキシドの化学シフト値を2.49 ppmとして表した。

FAB-MS : m/z 289 (M+H) ⁺ (但し、グリセロールをマトリックスに用いた。)

)

製造例 8 キサントアンゲロール (Xanthoangelol) [化合物(24)] の調製

明日葉乾燥品 (阪本漢方堂) 480 g をフードプロセッサで粉碎し、酢酸エチル約1 L で2回抽出し、得られた有機層画分を減圧濃縮した後、濃縮物をシリカクロマトに供した。次いで、クロロホルム: メタノール = 100:1 (600 mL) 、12:1 (600 mL) を順に用いて吸着物を段階的に溶出し、1 フラクションに8mL ずつ分取した。得られたフラクションのフラクション番号76以降を集めて減圧濃縮し、濃縮物をヘキサン: 酢酸エチル = 1.8 : 1 を展開溶媒としたシリカクロマトに供することによりフラクション番号25~50に化合物(24)を高濃度に含む画分を得た。この画分から、酢酸エチルとヘキサンにより再結晶することで、高純度の化合物(24)約200mg を得た。NMRスペクトルの測定結果を以下に示す。

¹ H-NMR : δ 1.58 (3H, s, -Me), 1.66 (3H, s, -Me), 1.81 (3H, s, -Me), 2.08 (4H, m), 3.48 (2H, d, J 7Hz), 5.04 (1H, m), 5.29 (1H, m), 6.40 (1H,

d, $J_{5',6'} 9\text{Hz}$, H-5'), 6.86 (2H, d, $J_{5,6} 9$, $J_{2,3} 9\text{Hz}$, H-2,6), 7.45 (1H, d, $J_{\alpha,\beta} 15\text{Hz}$, H- α), 7.54 (2H, d, H-3,5), 7.71 (1H, d, H-6'), 7.82 (1H, d, H- β)

但し、サンプルは重クロロホルムに溶解し、残留クロロホルムの化学シフト値を7.24 ppmとして表した。

製造例9 α -ヒドロキシブテイン (α -Hydroxybutein) [化合物(25)] の合成

後述の実施例1で合成した化合物(5) 200mg (0.455 mmol) を10 mM 炭酸ナトリウム緩衝液 455mLに溶解し室温、5 時間反応させた。反応液を濃縮し、逆相系カラムを用いたクロマトグラフィー（以下、逆相クロマトという）に供した。カラムはTSK gel ODS-80Ts（径21.5mm ×長30cm：東ソー社製）を用いた。溶媒A (0.1% トリフルオロ酢酸水溶液) と溶媒B (蒸留水とアセトニトリルを容量比1対1で混合したもので0.1% トリフルオロ酢酸を含む) の溶出比は0 分から120分にかけて溶媒B 比を直線的に0 %から100 %に、続く20分間は溶媒B比を100 %保持とした。溶出速度は5ml/分、検出は215nm で行った。

保持時間66.0分のピークを含むフラクションを採取し濃縮乾固することにより、化合物(25) 5.0 mg (収率2.5%)を得た。NMRスペクトル、質量スペクトルの測定結果を以下に示す。

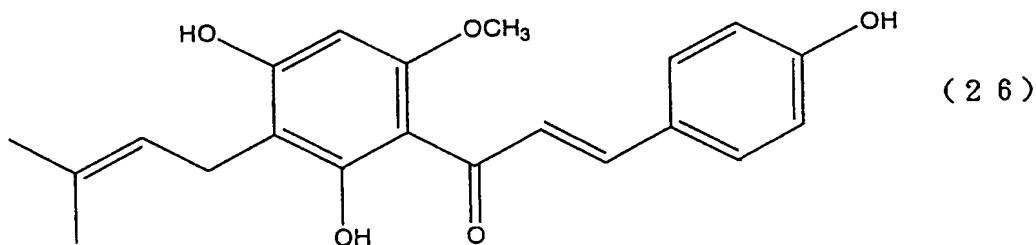
¹ H-NMR : δ 6.59 (1H, s, -H- β), 6.72 (1H, dd, $J_{3',5'} 1.5$, $J_{5',6'} 8.5$ Hz, H-5'), 6.85 (1H, d, H-3'), 6.87 (1H, d, $J_{5,6} 8.5\text{Hz}$, H-5), 7.20 (1H, dd, $J_{2,6} 2.0\text{Hz}$, H-6), 7.46 (1H, d, H-2), 7.54 (1H, d, H-6')

但し、サンプルは重ジメチルスルホキシドに溶解し、残留ジメチルスルホキシドの化学シフト値を2.49 ppmとして表した。

FAB-MS : m/z 271 (M-H₂ O+H)⁺ (但し、グリセロールをマトリックスに用了。)

製造例 10 キサントフモール (Xanthohumol) の調製

キサントフモールの精製を目的とし、ホップ由来キサントフモールフラクション（ホップスタイナー社製）1.9mg を逆相クロマトに供した。カラムはTSK gel ODS-80TsQA（径4.6mm ×長25cm：東ソー社製）を用いた。溶媒A（蒸留水とアセトニトリルを容量比3：1で混合したもので0.1%トリフルオロ酢酸を含む）と溶媒B（蒸留水とアセトニトリルを容量比1：3で混合したもので0.1%トリフルオロ酢酸を含む）の溶出比は0分から20分にかけて溶媒B比を直線的に50%から100%に、続く5分間は溶媒B比を100%に保持、最後に溶媒B比を50%にし5分間保持とした。溶出速度は1ml/分、検出は215nmで行った。保持時間12.8分のピークを含むフラクションを採取し濃縮乾固することにより約0.3mgの化合物を得た。得られた化合物をNMRにより解析し、化合物が式(26)に示すキサントフモールであることを確認した。



NMRスペクトル、質量スペクトルの測定結果を以下に示す。

¹H-NMR : δ 1.60 (3H, s, -Me), 1.69 (3H, s, -Me), 3.12 (2H, d, 7Hz, H-1''_{a,b}), 3.86 (3H, s, -OMe), 5.13 (1H, s, H-2''), 6.07 (1H, s, H-5'), 6.83 (2H, d, J_{2,3} 9Hz, J_{5,6} 9Hz, H-2,6), 7.56 (2H, d, H-3,5), 7.66 (1H, d, J_{a,b} 16Hz), 7.75 (1H, d), 10.05 (1H, s, OH-4), 10.55 (1H, s, OH-4'), 14.63 (1H, s, OH-2'')

但し、サンプルは重ジメチルスルホキシドに溶解し、残留ジメチルスルホキシドの化学シフト値を2.49 ppmとして表した。第9図に、得られたキサントフモール

ルの¹ H-NMR スペクトルを示す。第9図において、横軸は化学シフト値(ppm)、縦軸はシグナルの強度を示す。

FAB-MS : m/z 355 (M+H)⁺ (但し、グリセロールをマトリックスに用いた。)

実施例1 3,4,2',4'-テトラアセチルブテイン (3,4,2',4'-Tetraacetyl butein) [化合物(5)] の合成

製造例1で合成した化合物(13) 1 g (3.7 mmol) をジクロロメタン 50 mLに溶解し、氷冷下、無水酢酸 (18.5 mmol)、トリエチルアミン (18.5 mmol)、ジメチルアミノピリジン (1.8 mmol)を添加し、室温で1 時間攪拌した。反応液を飽和重曹水、10 % クエン酸水溶液、飽和塩化ナトリウム水溶液で順次洗浄した後、無水硫酸マグネシウムで乾燥し、減圧濃縮した。濃縮物からヘキサンとクロロホルムにより化合物(5) (1.5 g、収率90 %) を再結晶した。NMRスペクトル、質量スペクトルの測定結果を以下に示す。

¹ H-NMR : δ 2.23 (3H, s, -OAc), 2.29 (3H, s, -OAc), 2.30 (3H, s, -OAc), 2.31 (3H, s, -OAc), 7.00 (1H, d, J_{3',6'} 2, H-3'), 7.09 (1H, d, J_{α,β} 16Hz, H-α), 7.12 (1H, dd, J_{5',6'} 8Hz, H-5'), 7.23 (1H, d, J_{5,6} 8Hz, H-5), 7.41 (1H, d, J_{2,6} 2Hz, H-2), 7.44 (1H, dd, H-6), 7.52 (1H, d, H-β), 7.71 (1H, d, H-6')

但し、サンプルは重クロロホルムに溶解し、残留クロロホルムの化学シフト値を7.24 ppmとして表した。第1図に、化合物(5) の¹ H-NMR スペクトルを示す。第1図において、横軸は化学シフト値(ppm)、縦軸はシグナルの強度を示す。

FAB-MS : m/z 441 (M+H)⁺ (但し、グリセロールをマトリックスに用いた。)

実施例2 3,4-ジヒドロキシ-2',4'-ジクロロカルコン (3,4-Dihydroxy-2',4'-

dichlorochalcone) [化合物(6)] の合成

2',4'-ジクロロアセトフェノン (2',4'-Dichloroacetophenone; シグマ社製) 680 mg (3.6 mmol) と、3,4-ジヒドロキシベンズアルデヒド 500 mg (3.6 mmol) を出発材料とし、製造例1と同様の方法により、化合物(6) 320mg (収率29%)を得た。NMRスペクトル、質量スペクトルの測定結果を以下に示す。

¹H-NMR : δ 6.76 (1H, d, $J_{5,6}$ 8Hz, H-5), 6.88 (1H, d, $J_{\alpha,\beta}$ 16Hz, H- α), 7.04 (1H, dd, $J_{2,6}$ 2Hz, H-6), 7.11 (1H, d, H-2), 7.23 (1H, d, H- β), 7.55 (2H, m, H-5', 6')

但し、サンプルは重ジメチルスルホキシドに溶解し、残留ジメチルスルホキシドの化学シフト値を2.49 ppmとして表した。第2図に、化合物(6)の¹H-NMRスペクトルを示す。第2図において、横軸は化学シフト値(ppm)、縦軸はシグナルの強度を示す。

FAB-MS : m/z 309 (M+H)⁺ (但し、グリセロールをマトリックスに用いた。)

実施例3 3,4-ジヒドロキシ-2',4'-ジメトキシカルコン (3,4-Dihydroxy-2',4'-dimethoxy chalcone) [化合物(7)] の合成

2',4'-ジメトキシアセトフェノン (2',4'-Dimethoxy acetophenone; 東京化成製) 648 mg (3.6 mmol) と、3,4-ジヒドロキシベンズアルデヒド 500 mg (3.6 mmol) を出発材料とし、製造例1と同様の方法により、化合物(7) 600 mg (収率56%)を得た。NMRスペクトル、質量スペクトルの測定結果を以下に示す。

¹H-NMR : δ 4.10 (3H, s, -OMe), 4.40 (3H, s, -OMe), 6.62 (1H, dd, $J_{3,6}$ 2, $J_{5,6}$ 9Hz, H-5'), 6.67 (1H, d, H-3'), 6.77 (1H, d, $J_{5,6}$ 8Hz, H-5), 6.99 (1H, dd, $J_{2,6}$ 2Hz, H-6), 7.08 (1H, d, H-2), 7.25 (1H, d, $J_{\alpha,\beta}$ 16Hz, H- α), 7.39 (1H, d, H- β), 7.67 (1H, d, H-6')

但し、サンプルは重ジメチルスルホキシドに溶解し、残留ジメチルスルホキシ

ドの化学シフト値を2.49 ppmとして表した。第3図に、化合物(7) の¹ H-NMR スペクトルを示す。第3図において、横軸は化学シフト値(ppm)、縦軸はシグナルの強度を示す。

FAB-MS : m/z 301 (M+H)⁺ (但し、グリセロールをマトリックスに用いた。)
)

実施例4 4-(3,4-ジヒドロキシフェニル)-3-ブテン-2-オン [4-(3,4-Dihydroxyphenyl)-3-butene-2-one] [化合物(8)] の合成

アセトン(ナカライトスク社製)1 mLと、3,4-ジヒドロキシベンズアルデヒド1 g (7.2 mmol)を出発材料とし、製造例1と同様の方法により、化合物(8) 180 mg (収率14 %)を得た。NMRスペクトル、質量スペクトルの測定結果を以下に示す。

¹ H-NMR : δ 2.26 (3H, s, -Me), 6.47 (1H, d, J_{α,β} 16Hz, H-α), 6.76 (1H, d, J_{5,6} 8Hz, H-5), 7.00 (1H, dd, J_{2,6} 2Hz, H-6), 7.05 (1H, d, H-2), 7.43 (1H, d, H-β)

但し、サンプルは重ジメチルスルホキシドに溶解し、残留ジメチルスルホキシドの化学シフト値を2.49 ppmとして表した。第4図に、化合物(8) の¹ H-NMRスペクトルを示す。第4図において、横軸は化学シフト値(ppm)、縦軸はシグナルの強度を示す。

FAB-MS : m/z 179 (M+H)⁺ (但し、グリセロールをマトリックスに用いた。)
)

実施例5 1-アダマンチル-3-(3,4-ジヒドロキシフェニル)-2-プロペン-1-オン [1-Adamantyl-3-(3,4-dihydroxyphenyl)-2-propen-1-one] [化合物(9)] の合成

1-アダマンチルメチルケトン (1-Adamantyl methyl ketone ; シグマ社製) 64

0 mg (3.6 mmol) と、3,4-ジヒドロキシベンズアルデヒド 500 g (3.6 mmol) を出発材料とし、製造例 1 と同様の方法により、化合物(9) 500 mg (収率46 %)を得た。NMRスペクトル、質量スペクトルの測定結果を以下に示す。

¹ H-NMR : δ 1.65-2.04 (15H, m, -adamantyl), 6.74 (1H, d, $J_{5,6}$ 8Hz, H-5), 7.00 (1H, dd, $J_{2,6}$ 2Hz, H-6), 7.11 (1H, d, $J_{\alpha,\beta}$ 16Hz, H- α), 7.13 (1H, d, H-2), 7.36 (1H, d, H- β)

但し、サンプルは重ジメチルスルホキシドに溶解し、残留ジメチルスルホキシドの化学シフト値を2.49 ppmとして表した。第5図に、化合物(9) の¹ H-NMRスペクトルを示す。第5図において、横軸は化学シフト値(ppm)、縦軸はシグナルの強度を示す。

FAB-MS : m/z 299 (M+H)⁺ (但し、グリセロールをマトリックスに用いた。)

実施例 6 ジヒドロブテイン (Dihydrobutein) [化合物(10)] の合成

製造例 1 で合成した化合物(13) 200 mg (0.74 mmol) をメタノール15 mL に溶解し、パラジウム (ナカライトスク社製) 200 mg 存在下、水素ガスを通じながら室温で1.5 時間攪拌した。反応液をろ過し、減圧濃縮した後、クロロホルム：メタノール = 15 : 1 を展開溶媒としたシリカクロマトに供することにより化合物(10) 130 mg (収率65 %) を得た。NMRスペクトル、質量スペクトルの測定結果を以下に示す。

¹ H-NMR : δ 2.74 (1H, t, $J_{\alpha,\beta}$ 7.5Hz, H- β), 3.16 (1H, t, H- α), 6.23 (1H, d, $J_{3',5'}$ 2.5Hz, H-3'), 6.34 (1H, dd, $J_{5',6'}$ 9Hz, H-5'), 6.48 (1H, dd, $J_{5,6}$ 9, $J_{2,6}$ 2Hz, H-6), 6.60 (1H, d, H-5), 6.61 (1H, d, H-2), 7.77 (1H, d, H-6')

但し、サンプルは重ジメチルスルホキシドに溶解し、残留ジメチルスルホキシドの化学シフト値を2.49 ppmとして表した。第6図に、化合物(10)の¹ H-NMRス

スペクトルを示す。第6図において、横軸は化学シフト値(ppm)、縦軸はシグナルの強度を示す。

FAB-MS : m/z 275 (M+H)⁺ (但し、グリセロールをマトリックスに用いた。)

)

実施例7 1-アダマンチル-4-(3,4-ジヒドロキシフェニル)-3-ブテン-1-オン [1-Adamantyl-4-(3,4-dihydroxyphenyl)-3-butene-1-one] [化合物(11)] の合成

後述の実施例8で合成した化合物(12) 900mg (1.8 mmol) を実施例1 [化合物(5)の合成] と同様の方法でアセチル化した後、ジクロロメタン40 mL に溶解し、1,8-ジアザビシクロ(5.4.0)-7-ウンデセン [1,8-Diazabicyclo(5.4.0)-7-undecene : DBU] 4 mmolを加えて室温で2時間反応させた。反応液を10% クエン酸水溶液で洗浄、乾燥した後、濃縮乾固し、濃縮物をヘキサン：酢酸エチル = 5:1 を展開溶媒としたシリカクロマトに供することにより化合物(11)のTHP化体を得た。化合物(11)のTHP化体をメタノール10 mL に溶解し、スルホサリチル酸無水物 40g (0.157 mol)を添加し、室温で3時間攪拌した。反応液を酢酸エチルで希釈した後、飽和塩化ナトリウム水溶液で洗浄、無水硫酸マグネシウムで乾燥し、減圧濃縮した。濃縮物からヘキサンと酢酸エチルにより再結晶し、化合物(11) 20mg (収率44 %)を得た。NMRスペクトル、質量スペクトルの測定結果を以下に示す。

¹ H-NMR : δ 1.66-2.00 (15H, m, -adamantyl), 3.37 (1H, dd, J_{α,α} = 7, J_{α,β} = 1Hz, H-α), 5.93 (1H, dt, J_{β,δ} = 11Hz, H-β), 6.22 (1H, d, H-δ), 6.59 (1H, dd, J_{2,6} = 2, J_{5,6} = 8Hz, H-6), 6.63 (1H, d, H-5), 6.75 (1H, d, H-2)

但し、サンプルは重ジメチルスルホキシドに溶解し、残留ジメチルスルホキシドの化学シフト値を2.49 ppmとして表した。第7図に、化合物(11)の¹ H-NMRスペクトルを示す。第7図において、横軸は化学シフト値(ppm)、縦軸はシグナル

の強度を示す。

FAB-MS : m/z 313 (M+H)⁺ (但し、グリセロールをマトリックスに用いた。
)

実施例8 1-アダマンチル-3-ヒドロキシ-4-(3,4-ジヒドロキシフェニル)ブタン-1-オン [1-Adamantyl-3-hydroxy-4-(3,4-dihydroxyphenyl)butane-1-one] [化合物(12)] の合成

氷冷、アルゴン気流下、テトラヒドロフラン (THF) 2mL 中でジイソプロピルアミン (Diisopropylamine ; 和光純薬製) 224 μ L (1. 6 mmol) に1. 6M ブチルリチウム (Butyl lithium) ヘキサン溶液 (ナカライトスク社製) 1mL を徐々に添加し、30分間攪拌した。反応液をメタノール/ドライアイスで-70 °Cに冷却し、1-アダマンチルメチルケトン285 mg(1. 6 mmol)/500 μ L THF 溶液を添加し、30分間攪拌した。この反応液に、3',4'-ジヒドロキシフェニル酢酸 (3',4'-Dihydroxyphenyl acetic acid ; ナカライトスク社製) を完全THP化した後、1M DIBALヘキサン溶液 (ナカライトスク社製) で還元することにより得られた、3',4'-ジヒドロキシフェニルアセトアルデヒド (3',4'-Dihydroxyphenyl acetaldehyde) のTHP化体 500mg (1.6mmol)/ THF 500 μ L を徐々に添加し、-70 °Cで10分間攪拌した。反応液に飽和塩化アンモニウム水溶液を添加し、次いでエーテル抽出により得られた有機層画分をヘキサン：酢酸エチル = 4:1 を展開溶媒としたシリカクロマトに供することにより化合物(12)のTHP化体を得た。化合物(12)のTHP化体をメタノール10 mL に溶解し、スルホサリチル酸無水物 40mg (0.157 mmol)を添加し、室温で3時間攪拌した。反応液を酢酸エチルで希釈した後、飽和塩化ナトリウム水溶液で洗浄、無水硫酸マグネシウムで乾燥し、減圧濃縮した。濃縮物からヘキサンと酢酸エチルにより再結晶し、化合物(12) 260mg (収率57 %) を得た。NMRスペクトル、質量スペクトルの測定結果を以下に示す。

¹ H-NMR : δ 1.58-1.98 (15H, m, -adamantyl), 2.25 (1H, dd, $J_{\alpha, \beta}$ 4.5,

$J_{\alpha,\alpha}$, 16.5Hz, H- α), 2.41 (1H, dd, $J_{\beta,\beta}$ 6.0, $J_{\delta,\delta}$, 13.5Hz, H- δ), 2.61 (1H, dd, $J_{\alpha,\beta}$ 4.5Hz, H- α'), 3.99 (1H, m, H- β), 6.38 (1H, dd, $J_{2,\delta}$ 2, $J_{5,\delta}$ 8Hz, H-6), 6.55 (1H, d, H-2), 6.57 (1H, d, H-2)

但し、サンプルは重ジメチルスルホキシドに溶解し、残留ジメチルスルホキシドの化学シフト値を2.49 ppmとして表した。第8図に、化合物(12)の¹ H-NMRスペクトルを示す。第8図において、横軸は化学シフト値(ppm)、縦軸はシグナルの強度を示す。

FAB-MS : m/z 331 (M+H)⁺ (但し、グリセロールをマトリックスに用いた。)

)

参考例1 カフェイン酸を用いたNGF産生増強活性測定方法の検討

マウス線維芽細胞L-M細胞 (ATCC CCL-1, 2) を0.5%のバクトペプトン(ギブコ社製)を含むM199培地 (ICN社製)に 1.5×10^5 細胞/m²になるように懸濁し、96穴プレートに0.1mlずつまき無菌的に培養した。3日間培養後、培地をとり除き、0.5%のウシ血清アルブミン(シグマ社製)を含むM199培地に置き換えた。細胞を含む各ウェルに対しNGF産生増強活性を有する公知の物質であるカフェイン酸 [Caffeic Acid : シグマ社製、ジメチルスルホキシド(DMSO)溶液]を最終濃度が0、50、100、200 μ Mになるように添加し、24時間培養した。なお、カフェイン酸濃度が0 μ Mのものを陰性対照とした。また、各ウェルのDMSOの最終濃度は0.1%になるようにした。培養終了後、培養液中のNGFの濃度をエンザイムイムノアッセイ法 (NGF Emax Immuno Assay System : プロメガ社製)にて測定した。各添加量でのカフェイン酸のNGF産生増強の度合いは、各添加量での細胞培養液中のNGF濃度を、陰性対照の細胞培養液中のNGF濃度を100%として100分率により増強率(%)として表した。その結果を表3に示す。実験は2連で行い、その平均値を採用した。本方

法によりカフェイン酸のNGF産生増強活性を測定できることが明らかとなった。また本参考例により、カフェイン酸はその濃度依存的にNGF産生を増強させることも明らかとなった。

表 3

添加量 (μM)	0	50	100	200
増強率 (%)	100	89.7	150	349

ただし、陰性対照のNGF濃度は、0.14278 ng/m1であった。

実施例 9 化合物(13)によるNGF産生の増強

参考例1と同様の方法で、化合物(13)（フナコシ社製）のNGF産生増強活性を測定した。化合物(13)は、最終濃度が0、0.5、1、2、5、10、20、50 μMになるように添加した。その結果を表4に示す。化合物(13)は、濃度依存的にL-M細胞のNGF産生を増強し、高いNGF産生増強活性を示すとともにまたその作用有効濃度領域が広いことが明らかとなった。

表 4

添加量 (μM)	0	0.5	1	2	5	10	20	50
増強率 (%)	100	120	462	1107	2100	3686	3927	1743

ただし、陰性対照のNGF濃度は、0.07091 ng/m1であった。

実施例 10 化合物(14)によるNGF産生の増強

参考例1と同様の方法で、化合物(14)（シグマ社製）のNGF産生増強活性を測定した。化合物(14)は、最終濃度が0、50、100、200 μMになるよう

に添加した。その結果を表5に示す。化合物(14)は、濃度依存的にL-M細胞のNGF産生を増強し、高いNGF産生増強活性を示すとともにその作用有効濃度領域が広いことが明らかとなった。

表5

添加量 (μM)	0	50	100	200
増強率 (%)	100	310	550	1884

ただし、陰性対照のNGF濃度は、0.07091ng/m1であった。

実施例1 1 化合物(15)によるNGF産生の増強

参考例1と同様の方法で、化合物(15)（シグマ社製）のNGF産生増強活性を測定した。化合物(15)は、最終濃度が0、12.5、25、50μMになるよう添加した。その結果を表6に示す。化合物(15)は、濃度依存的にL-M細胞のNGF産生を増強し、高いNGF産生増強活性を示すとともにまたその作用有効濃度領域が広いことが明らかとなった。

表6

添加量 (μM)	0	12.5	25	50
増強率 (%)	100	236	263	320

ただし、陰性対照のNGF濃度は、0.14278ng/m1であった。

実施例1 2 化合物(16)によるNGF産生の増強

参考例1と同様の方法で、化合物(16)（和光純薬社製）のNGF産生増強活性を測定した。化合物(16)は、最終濃度が0、25、50、100μMになるよう

に添加した。その結果を表7に示す。化合物(16)は、濃度依存的にL-M細胞のNGF産生を増強し、高いNGF産生増強活性を示すとともにまたその作用有効濃度領域が広いことが明らかとなった。

表7

添加量 (μM)	0	25	50	100
増強率 (%)	100	114	116	261

ただし、陰性対照のNGF濃度は、0.14278ng/mlであった。

実施例13 化合物(5)～(12)および(17)～(25)によるNGF産生の増強

参考例1と同様の方法で、製造例2～9および実施例1～8で合成した化合物(5)～(12)、(17)～(22)、(24)および(25)、化合物(23)（ロスマリン酸：フナコシ社製）または従来よりNGF産生増強物質として知られているカフェイン酸（CA）、4-メチルカテコール（4MC）およびエピネフリン（EN）のNGF産生増強活性を測定した。各化合物は、表8～10に示す最終濃度になるように添加した。また、化合物添加後の細胞培養時間は20時間とした。これらの結果を表8～10に示す。各化合物の試験ごとに陰性対照を設け、それぞれ実験は2連で行い、その平均値を採用した。

表 8

NC	(ng/ml)	添加量 (μM)						
		0	3.125	6.25	12.5	25	50	100
CA	0.179	100	N.T.	N.T.	N.T.	N.T.	165.1	169.9
4MC	0.239	100	N.T.	N.T.	143.0	312.9	1047.7	N.T.
EN	0.202	100	N.T.	N.T.	N.T.	N.T.	137.2	218.0
化合物(5)	0.179	100	N.T.	684.5	1330.1	1659.5	N.T.	N.T.
化合物(6)	0.167	100	N.T.	762.7	864.3	1280.3	N.T.	N.T.
化合物(7)	0.2	100	N.T.	358.9	410.2	899.3	N.T.	N.T.
化合物(8)	0.181	100	N.T.	N.T.	N.T.	374.8	676.2	2198.0
化合物(9)	0.181	100	205.6	549.6	810.3	N.T.	N.T.	N.T.
化合物(10)	0.167	100	N.T.	174.1	333.2	839.3	N.T.	N.T.
化合物(12)	0.181	100	107.6	363.7	966.5	908.3	1111.7	N.T.
化合物(17)	0.179	100	N.T.	N.T.	194.6	598.1	1101.1	N.T.
化合物(18)	0.2	100	N.T.	471.1	476.0	873.6	N.T.	N.T.
化合物(19)	0.212	100	N.T.	N.T.	268.8	312.5	844.5	N.T.
化合物(20)	0.2	100	N.T.	N.T.	346.1	482.4	692.4	N.T.
化合物(21)	0.212	100	N.T.	N.T.	N.T.	222.7	228.8	501.5
化合物(22)	0.167	100	N.T.	N.T.	N.T.	N.T.	123.8	130.3
化合物(23)	0.239	100	N.T.	N.T.	N.T.	N.T.	110.9	131.1
化合物(24)	0.199	100	N.T.	N.T.	N.T.	126.1	202.6	265.7

表 9

NC	(ng/ml)	添加量 (μM)		
		0	0.781	1.563
化合物(11)	0.181	100	775.2	865.8

表 1 0

NC (ng/ml)	添加量 (μM)				
	0	31.25	62.5	125	250
増強率 (%)					
化合物(25) 0.325	100	160.6	183.6	273.6	495.3

なお、表中のNCは陰性対照のNGF濃度を示す。また、N. T. は試験していないことを示す。

これらの結果から、本発明に使用される化合物(5)～(12)および(17)～(25)は、従来よりNGF産生増強物質として知られているカフェイン酸、4-メチルカテコールおよびエピネフリンよりもNGF産生増強活性の強さ、もしくはNGF産生増強活性を示す濃度領域が広域である点で高い有用性を持つことが示された。

実施例 1 4

(1) マウス線維芽細胞L-M細胞 (ATCC CCL-1.2) を0.5 %のバクトペプトン (ギブコ社製) を含むM199 培地 (ICN 社製) で 1.5×10^5 細胞/m² に懸濁し、96穴プレートに 0.1 ml ずつまき無菌的に培養した。3日間培養後、培地を取り除き、0.5 %のウシ血清アルブミン (シグマ社製) を含むM199 培地に置き換えた。これにキク科ベニバナ (Carthamus tinctorius LINNE) の花より抽出して得られた黄色色素 (粉末サンエローNo.2、三栄源エフ・エフ・アイ社製) を試料として最終濃度が 0、1.25、2.5、5 mg/m² となるように添加し、20時間培養した。培養終了後、培養液中のNGFの濃度をエンザイムイムノアッセイ法 (NGF Emax Immuno Assay System : プロメガ社製) にて測定した。NGF産生増強の度合いを、陰性対照としての、試料を添加していない細胞培養液中のNGF濃度を100%とし100分率により増強率(%)として表した。実験は2連で行い、その平均値を採用した。その結果、ベニバナ黄色色素は

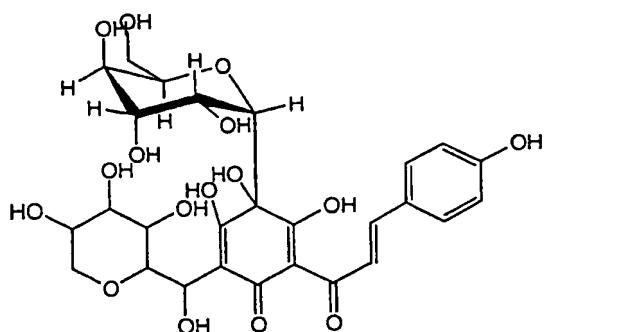
濃度依存的にL-M細胞のNGF産生を増強した。その結果を表11に示す。

表11

添加量 (mg/m1)	増加率 (%)
0	100
1.25	277.6
2.5	441.3
5	808.4

ただし、陰性対照のNGF濃度は0.507ng/m1であった。

(2) 実施例14-(1)に記載のベニバナ黄色色素中の活性成分を逆相クロマトを用いて精製単離した。以下にその条件について示す。カラムはTSK gel OD S-80Ts (径21.5mm×長30cm: 東ソー社製) を用いた。溶媒A (0.1%トリフルオロ酢酸水溶液) と溶媒B (蒸留水とアセトニトリルを容量比1対1で混合したもので0.1% トリフルオロ酢酸を含む) の溶出比は0分から50分にかけて溶媒B比を直線的に0%から100%に、続く15分間は溶媒B比を100%に保持、最後に溶媒B比を0%にし15分間保持とした。溶出速度は5ml/分、検出は215nmで行った。3分間ごとにフラクションを採取し、各フラクションのNGF産生増強活性を実施例13と同様の方法で測定した。その結果、保持時間32.5分と41.8分の検出のピークを含むフラクションに、活性があることが明らかになった。保持時間32.5分のフラクションについて質量スペクトル解析を行ったところ、分子量が613のシグナルが検出された。さらに、¹H-NMRスペクトル(第9図)、¹³C-NMRスペクトル解析の結果、活性成分は式(27)に示す化合物(27)のサフロミンA(分子量612.53)であることを確定した。



(27)

このようにして得られた精製サフロミンAのNGF産生増強活性を実施例13と同様の方法で測定した。精製サフロミンAは最終濃度が0、2.5mg/mlとなるよう添加した。その結果、精製したサフロミンAはL-M細胞のNGF産生を増強した。サフロミンAの結果については表12に、保持時間41.8分のフラクション中に含まれた物質についての結果については表13に示す（該物質の添加量は表13に示す）。

表12

添加量 (mg/ml)	増加率 (%)
0	100
2.5	130.7

ただし、陰性対照のNGF濃度は0.739ng/mlであった。

表13

添加量 (mg/ml)	増加率 (%)
0	100
1.25	350.7
2.5	643.4

ただし、陰性対照のNGF濃度は0.736ng/mlであった。

実施例 15 キサントフモールによるNGF 産生の増強

実施例 13 と同様の方法で製造例 10 で調製したキサントフモールの NGF 産生増強活性を測定した。キサントフモールは、最終濃度が 0、15.6、31.3、62.5、125 μ M となるように添加した。その結果を表 14 に示す。キサントフモールは、濃度依存的に L-M 細胞の NGF 産生を増強し、高い NGF 産生増強活性を示すと共に、また、その作用有効濃度領域が広いことが明らかとなった。

表 14

添加量 (μ M)	増加率 (%)
0	100
15.6	160.3
31.3	212.1
62.5	473.2
125	897.1

ただし、陰性対照の NGF 濃度は 0.0575 ng/m1 であった。

実施例 16

(1) ミリセチンによる NGF 産生の増強

ラット線維芽 L-M 細胞 (ATCC CCL-1.2) を 0.5% のバクトペプトン (ギブコ社製) を含む M199 培地 (ICN 社製) で 1.5×10^5 細胞 /m1 に懸濁し 96 穴プレートに 0.1 m1 ずつまき無菌的に培養した。3 日間培養後、培地をとり除き、0.5% のウシ血清アルブミン (シグマ社製) を含む M199 培地に置き換えた。

細胞を含む各ウェルに対しミリセチン (シグマ社製) を最終濃度が 0、31.3、62.5、125、250 μ M となるように添加し、24 時間培養した。陰性対照として蒸留水を添加したものを用いた。培養終了後、培養液中の NGF の濃度をエンザイムイムノアッセイ法 (NGF Emax Immuno Assay System: プロメガ

社製)にて測定した。各添加量でのNGF産生増強の度合いは、各添加量での細胞培養液中のNGF濃度を陰性対照の細胞培養液中のNGF濃度を100%として100分率により増強率(%)として表した。その結果を表15に示した。実験は2連で行い、その平均値を採用した。ミリセチンは、濃度依存的にL-M細胞のNGF産生を増強した。

表15

添加量(μM)	0	31.3	62.5	125	250
増強率(%)	100	111	137	307	397

ただし、陰性対照のNGF濃度は、0.038ng/mlであった。

(2) クエルセチンによるNGF産生の増強

実施例16-(1)と同様の方法で、クエルセチン(シグマ社製)のNGF産生増強活性を測定した。クエルセチンは、最終濃度が0、31.3、62.5、125、250μMになるように添加した。その結果を表16に示す。クエルセチンは、濃度依存的にL-M細胞のNGF産生を増強した。

表16

添加量(μM)	0	31.3	62.5	125	250
増強率(%)	100	122	108	173	219

ただし、陰性対照のNGF濃度は、0.053ng/mlであった。

(3) ミリシトリンによるNGF産生の増強

実施例16-(1)と同様の方法で、ミリシトリン(フナコシ社製)のNGF産生増強活性を測定した。ミリシトリンは、最終濃度が0、31.3、62.5、125、250μMになるように添加した。その結果を表17に示した。ミリ

シトリンは、濃度依存的にL-M細胞のNGF産生を増強した。

表17

添加量 (μM)	0	31.3	62.5	125	250
増強率 (%)	100	105	159	294	304

ただし、陰性対照のNGF濃度は、0.053ng/mlであった。

(4) クエルシトリンによるNGF産生の増強

実施例16-(1)と同様の方法で、クエルシトリン(シグマ社製)のNGF産生増強活性を測定した。クエルシトリンは、最終濃度が0、31.3、62.5、125、250μMになるように添加した。その結果を表18に示した。クエルシトリンは、濃度依存的にL-M細胞のNGF産生を増強した。

表18

添加量 (μM)	0	31.3	62.5	125	250
増強率 (%)	100	122	140	193	207

ただし、陰性対照のNGF濃度は、0.053ng/mlであった。

実施例17

雄性SDラットを日本SLC社から購入し、予備飼育の後5週齢より実験に用いた。 streptozotocin(ナカライトスク社製)を、体重1kgあたり100mg腹腔内に投与して糖尿病を惹起した。 streptozotocin投与5日後の血糖値によって群分けを行った。次いで、ブテイン(化合物(13))を生理食塩水に溶解して体重1kgあたり100μgの割合で腹腔内に投与した。対照群には生理食塩水のみを同様に投与した。投与は連日行い、投与開始から4週間後に坐骨神

経（約 3.5 mg）を摘出した。摘出した神経をホモジナイズして、NGFを抽出し、含有量をエンザイムイムノアッセイ法（NGF Emax Immuno Assay System：プロメガ社製）にて測定した。

その結果を表19に示す。表中の数字は、6例の平均値±標準誤差を表す。また、*印はStudent のt検定により、対照群に対して5%以下の危険率で有意な差を有することを意味する。すなわち、対照群に対しブテイン投与群では神経中のNGF含有量が増加していた。このように、ブテインの生体への投与により、NGF産生が増強することが明らかになった。

表19

NGF含有量 (pg/坐骨神経)	
ブテイン投与群 (N=6)	187.7 ± 26.4*
対照群 (N=6)	119.2 ± 11.7
平均値±標準誤差	

実施例18

(1) マウス線維芽細胞L-M細胞 (ATCC CCL-1.2) を0.5%のバクトペプトン（ギブコ社製）を含むM199 培地 (ICN 社製) で 2.5×10^5 細胞/mlに懸濁し6穴プレートに2 mlずつまき無菌的に培養した。3日間培養後、培地を取り除き、0.5%のウシ血清アルブミン（シグマ社製）を含むM199 培地1 mlに置き換えた。これにジメチルスルホキシドに溶解したブテイン〔化合物(13)〕を最終濃度が $20 \mu\text{M}$ (DMSOの最終濃度0.1%) となるように添加し20時間培養した。培養終了後、培養上清を採取し、20%のウシ胎仔血清 (JRH バイオサイエンス社製) を含むDME 培地 (バイオウィッタカー社製) をなど容量添加し、 $0.22 \mu\text{m}$ の滅菌フィルターに通し、ブテイン処理調製培地を得た。また、ブテインの代わりにDMSOのみを最終濃度0.1%となるように添加した培養上清についても、同様

の操作を行い、対照調製培地を得た。

(2) 実施例 1 8 - (1) で調製したブテイン処理調製培地ならびに対照調製培地中に含まれるNGF の生化学的な活性の評価を以下の方法で調べた。

まず、あらかじめラット副腎褐色細胞腫PC-12 細胞 (ATCC CRL-1721) を10% のウシ胎仔血清を含むDME 培地で 2.0×10^4 細胞/mlに懸濁しコラーゲンコートした96穴プレートに0.1 mlずつまき無菌的に24時間培養しておいた。次に、0.5 %のウシ血清アルブミンを含むM199 培地と20%のウシ胎仔血清を含むDME 培地をなど量ずつ混合した培地（以下、アッセイ用培地）を用いて、ブテイン処理調製培地ならびに対照調製培地について2倍希釈系列（原液、2 分の1 希釀液、4 分の1 希釀液、8 分の1 希釀液、16分の1 希釀液、32分の1 希釀液）を調製した。培養しておいたPC-12 細胞から培地を取り除き、ブテイン処理調製培地ならびに対照調製培地の前記段階希釀液を100 μ l 添加し、無菌的に48時間培養した。なお、比較として調製培地の代わりに、アッセイ用培地のみを100 μ l 添加し、無菌的に48時間培養した。培養終了後、顕微鏡（オリンパス社製）観察下で無作為に視野を選び細胞の写真（倍率：100倍）をとった。写真中の300 ~500 個の細胞を対象に、神経突起伸長陽性のPC-12 細胞の数をカウントし、下式により神経突起伸長率（%）を算出した。

$$\text{神経突起伸長率（%）} = \frac{\text{神経突起陽性の細胞数（個）}}{\text{総細胞数（個）}} \times 100$$

なお、神経突起の長さが細胞の長径よりも長いものを神経突起伸長陽性とした。ブテイン処理調製培地ならびに対照調製培地について求めた神経突起伸長率（%）の結果を表20に示す。実験は3連で行いその平均値を採用した。ブテイン処理調製培地は対照調製培地にくらべ強い神経突起伸長活性を示した。

表 2 0

希釀液	神経突起伸長率 (%)		
	ブテイン処理調製培地	対照調製培地	
原液	64.1	33.5	
2分の1希釀液	60.1	21.7	
4分の1希釀液	42.8	11.6	
8分の1希釀液	38.3	10.6	
16分の1希釀液	27.7	8.87	
32分の1希釀液	21.2	4.02	

アッセイ用培地のみを添加した場合の神経突起伸長率は3.66% であった。

実施例 19 治療剤の製造 1

注射剤

I. 生理食塩水にブテイン〔化合物(13)〕を1%濃度で加え、注射剤を作製した。

II. 生理食塩水にブテイン〔化合物(13)〕およびグリシルリチン酸をそれぞれ0.5%および0.1%濃度で加え、注射剤を作製した。

また、化合物(5)～(12)、(14)～(25)についても上記I、IIと同様の方法で注射剤を作製した。

錠剤

III. ブテイン〔化合物(13)〕100mgと微結晶性セルロースの適量とを含有する錠剤を調製し、糖衣を施し、各錠剤を作製した。

IV. ブテイン〔化合物(13)〕0.1mg、グリシルリチン酸ジカリウム10mgおよび微結晶セルロースの適量を含有する錠剤を調製し、糖衣を施し、錠剤を作製した。

また、化合物(5)～(12)、(14)～(27)についても上記III、IVと同様の方法で錠剤を作製した。

実施例 20 治療剤の製造 2

注射剤

- I. 生理食塩液にミリセチンを 1 % 濃度で加え、注射剤を作製した。
- II. 生理食塩水にミリセチンおよびグリシルリチン酸をそれぞれ 0. 5 % および 0. 1 % 濃度で加え、注射剤を作製した。

錠剤

- I. ミリセチン 100 mg と微結晶性セルロースの適量とを含有する錠剤を調製し、糖衣を施し、各錠剤を作製した。
- II. ミリセチン 0. 1 mg、グリシルリチン酸ジカリウム 10 mg および微結晶セルロースの適量を含有する錠剤を調製し、糖衣を施し、錠剤を作製した。

試験例 1 毒性試験

雄性SDラットを日本SLC社から購入し、予備飼育の後 6 週齢より実験に用いた。ブテイン〔化合物(13)〕を生理食塩水に溶解して腹腔内投与、または 0.5% カルボキシメチルセルロースに懸濁して強制経口投与した。投与濃度は、腹腔内投与の場合は体重 1 kgあたり 300 mg (N=3)、10 mg (N=3)、1 mg (N=3)、0.1 mg (N=3) とし、また、強制経口投与の場合は体重 1 kg あたり 1 g (N=2)、0.1 g (N=3) とした。対照群にはそれぞれの溶媒のみを同様に投与した。投与後、いずれの投与群においても、死亡例、一般症状の変化、体重増加の抑制、解剖時の異常所見は認められなかった。

また、本発明で有効成分として使用する化合物をCDF、マウス（雄性、7 週齢、日本SLC社）に経口投与して同様に試験を行ったところ、毒性なしまたは低毒性であることが確かめられた。

試験例 2 毒性試験

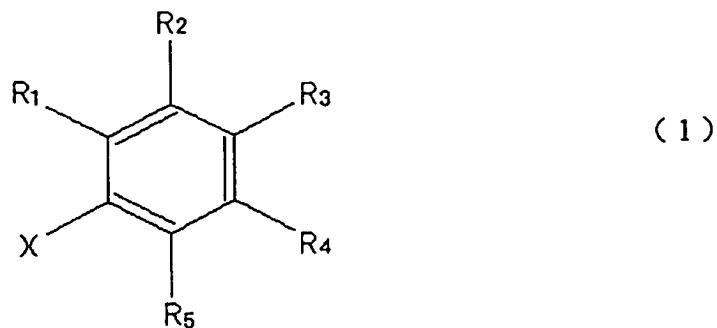
実施例 1 6 で用いた各化合物を前述の試験例 1 と同様にマウスに経口投与したところ、低毒性であることが確かめられた。

産業上の利用可能性

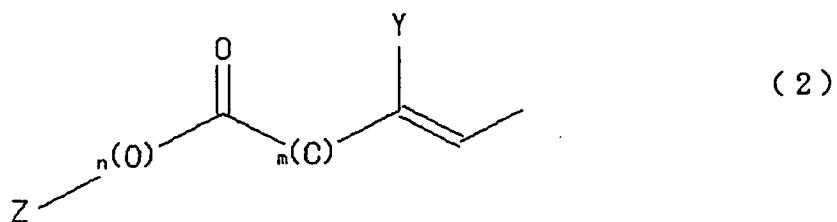
本発明により NGF 產生増強活性を有する前記有効成分を含有する医薬が提供される。かかる医薬は、NGF 產生増強を要する疾患の治療剤または予防剤として生体の恒常性の維持に有用なものである。また本発明では、前記有効成分を含有する NGF 產生増強剤が提供される。かかる増強剤は、神経細胞機構に関する生化学的研究や、痴呆症、神経障害薬等のスクリーニングに有用である。さらに本発明では、NGF 產生増強用食品、飲料または飼料も提供される。これらの食品、飲料または飼料は、本発明に使用される有効成分に感受性を示す NGF 產生増強を要する疾患の症状改善、予防に極めて有用である。また、本発明においては NGF 產生増強作用を有する新規化合物についても提供される。

請求の範囲

1. 下記一般式（1）で表される化合物：

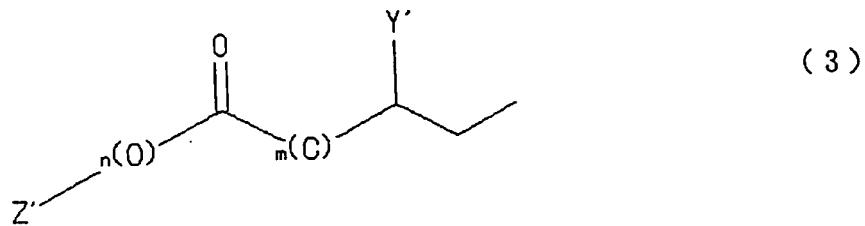


〔式中、R₁、R₂、R₃、R₄ およびR₅ は各々同じであっても異なってもよく、水素原子、水酸基、アルコキシ基またはアシルオキシ基であり；Xは、下記一般式（2）：



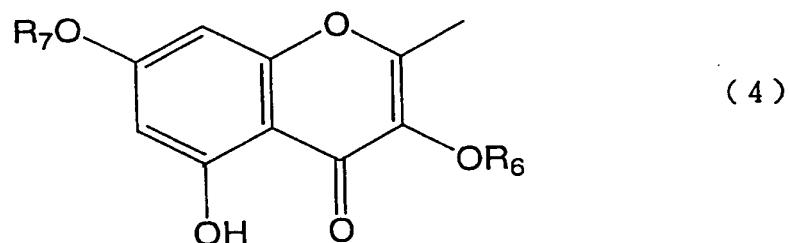
〔式中、Zは水素原子または特性基が導入されていてもよい脂肪族基、芳香族基もしくは芳香脂肪族基であり、Yは水素原子または水酸基であり、mおよびnは各々0または1である。〕、

下記一般式（3）：



(式中、Z' は水素原子または特性基が導入されていてもよい脂肪族基、芳香族基もしくは芳香脂肪族基であり、Y' は水素原子または水酸基であり、m および n は各々 0 または 1 である。)、

または下記一般式 (4) :



(式中、R₆ および R₇ は各々同じであっても異なってもよく、水素原子、糖残基、または特性基が導入されていてもよい脂肪族基、芳香族基もしくは芳香脂肪族基である。)

で表される。ただし、前記一般式 (1) において、R₁、R₄ および R₅ が共に水素原子、R₂ および R₃ が共に水酸基、X が前記一般式 (2) であり、かつ該一般式 (2) において、n が 1、m が 0、Z および Y が水素原子である場合を除く。)

および薬理学的に許容されるそれらの塩からなる群より選択される少なくとも 1 種の化合物を有効成分として含有することを特徴とする神経成長因子産生増強を必要とする疾患の治療剤または予防剤。

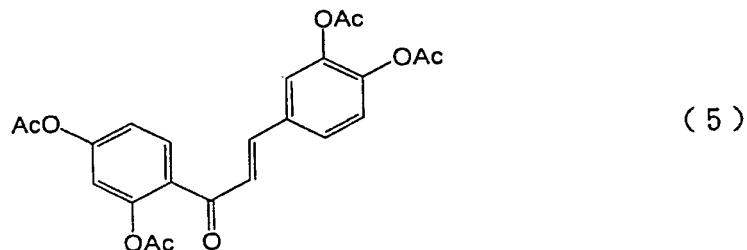
2. 請求項 1 において記載の一般式 (1) で表される化合物および薬理学的に許容されるそれらの塩からなる群より選択される少なくとも 1 種の化合物を有効成分として含有することを特徴とする神経成長因子産生増強剤。

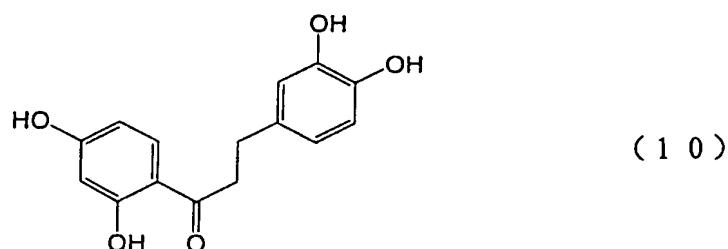
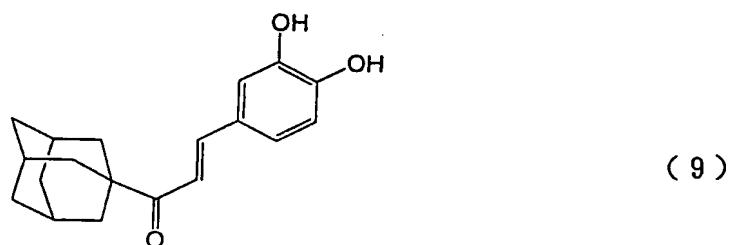
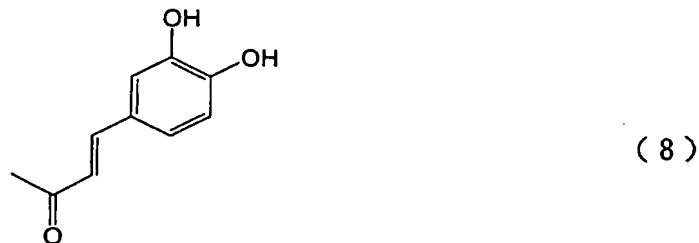
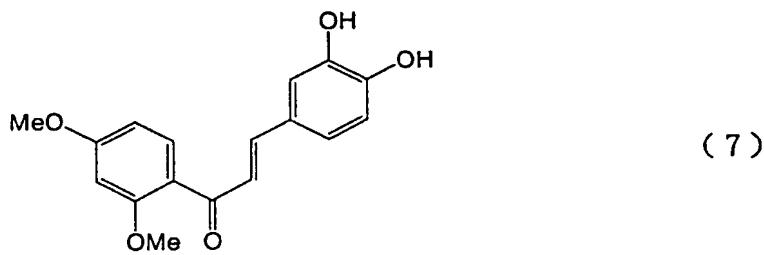
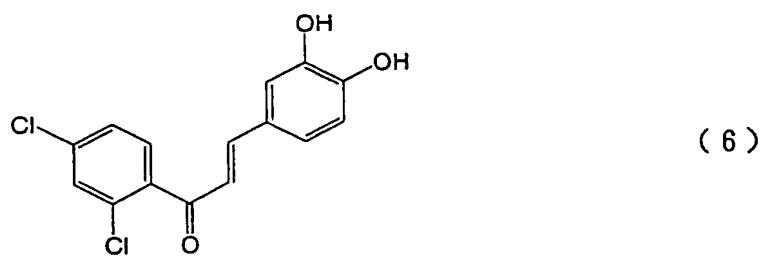
3. 請求項 1 において記載の一般式 (1) で表される化合物および薬理学的に許容されるそれらの塩からなる群より選択される少なくとも 1 種の化合物を動物に投与することを特徴とする神経成長因子産生の増強方法。

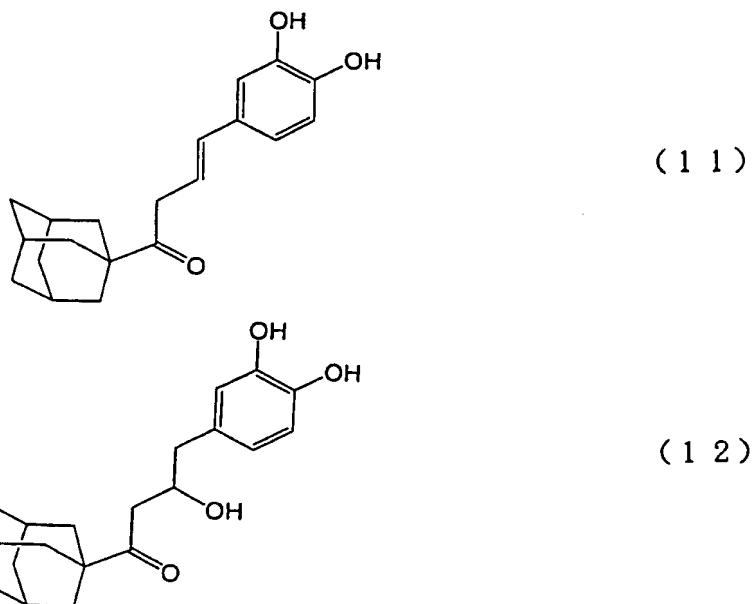
4. 請求項 1 において記載の一般式 (1) で表される化合物およびそれらの塩からなる群より選択される少なくとも 1 種の化合物を有効成分として含有することを特徴とする神経成長因子産生増強用食品、飲料または飼料。

5. 神経成長因子産生増強を必要とする疾患の治療剤もしくは予防剤、神経成長因子産生増強剤、または神経成長因子産生増強用食品、飲料もしくは飼料の製造における請求項 1 において記載の一般式 (1) で表される化合物およびそれらの塩からなる群より選択される少なくとも 1 種の化合物の使用。

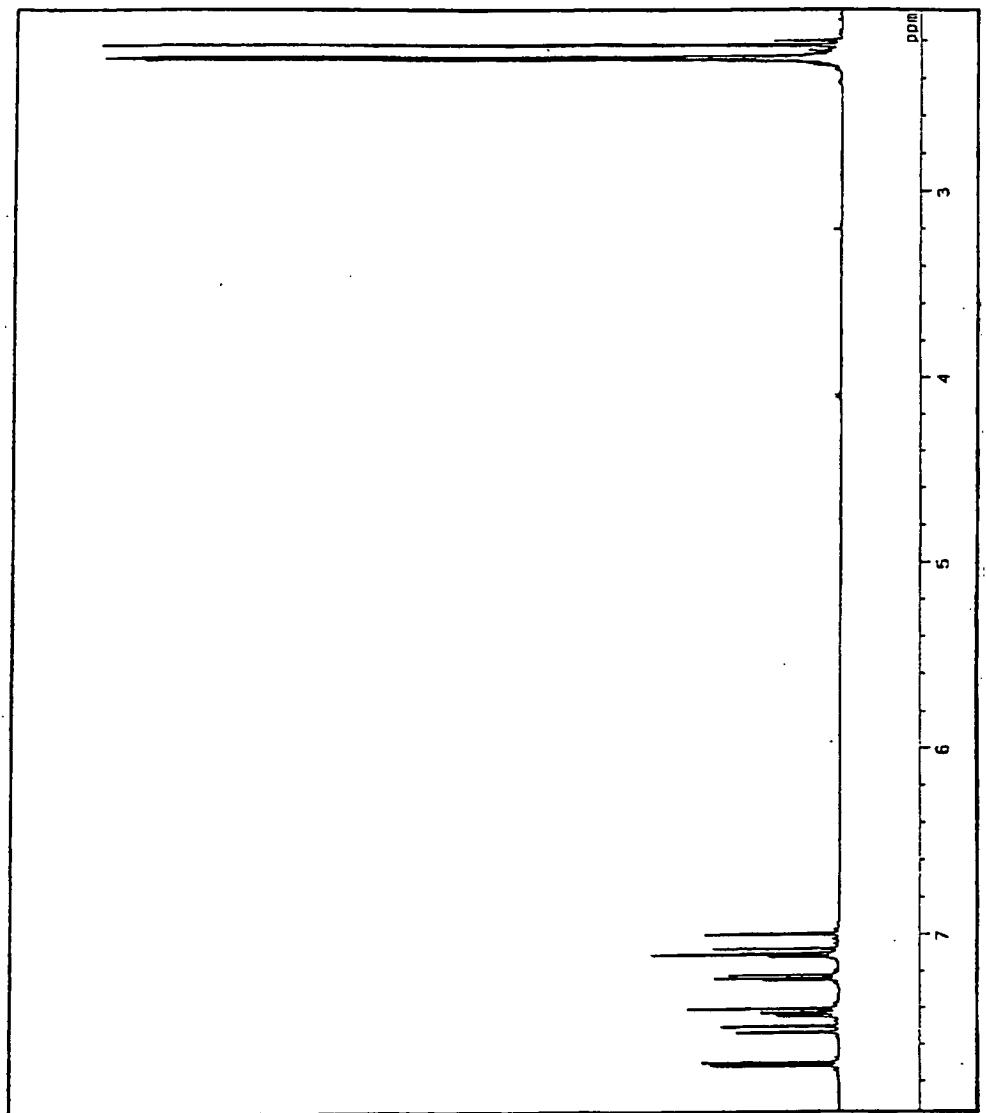
6. 下記式 (5) ~ (12) で表わされる化合物：





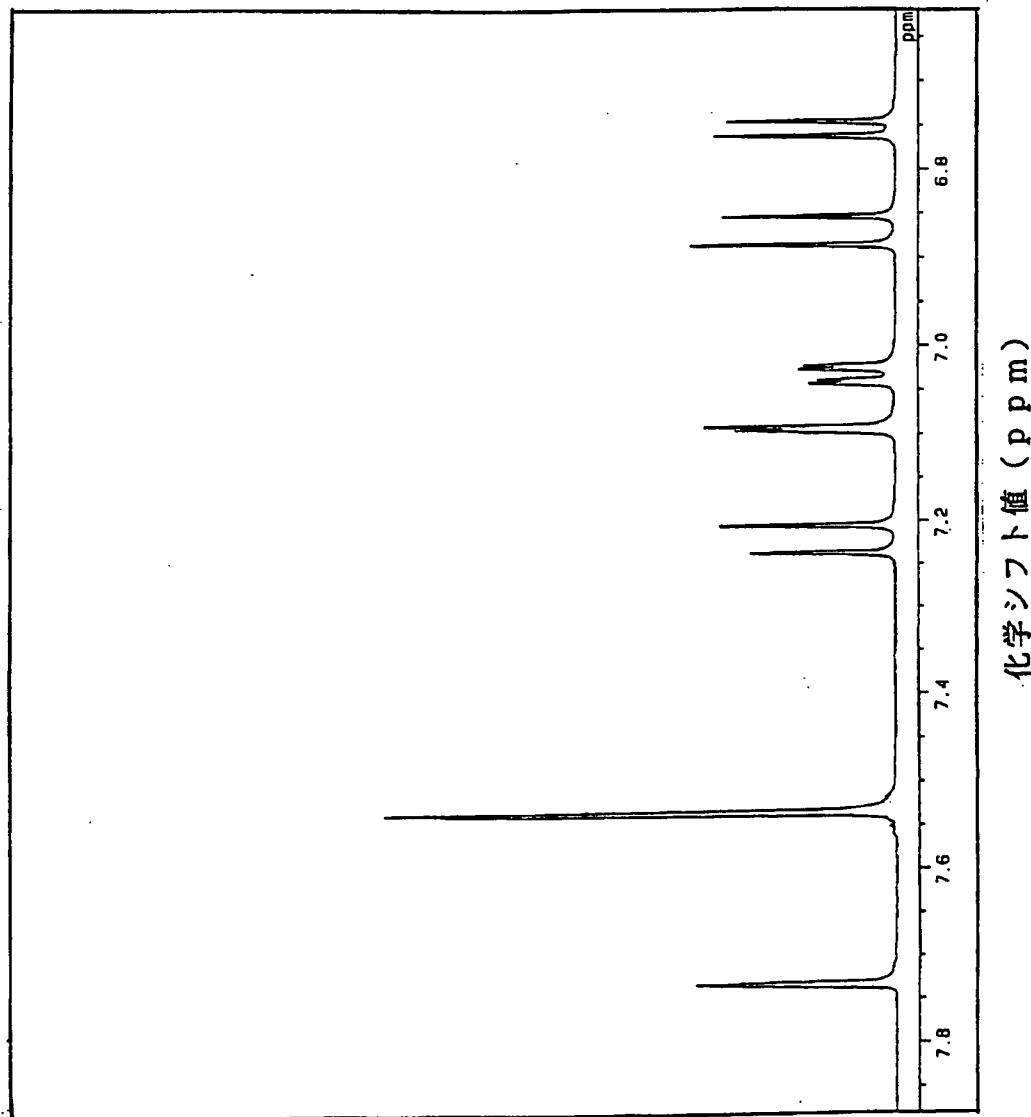


からなる群より選択される化合物。



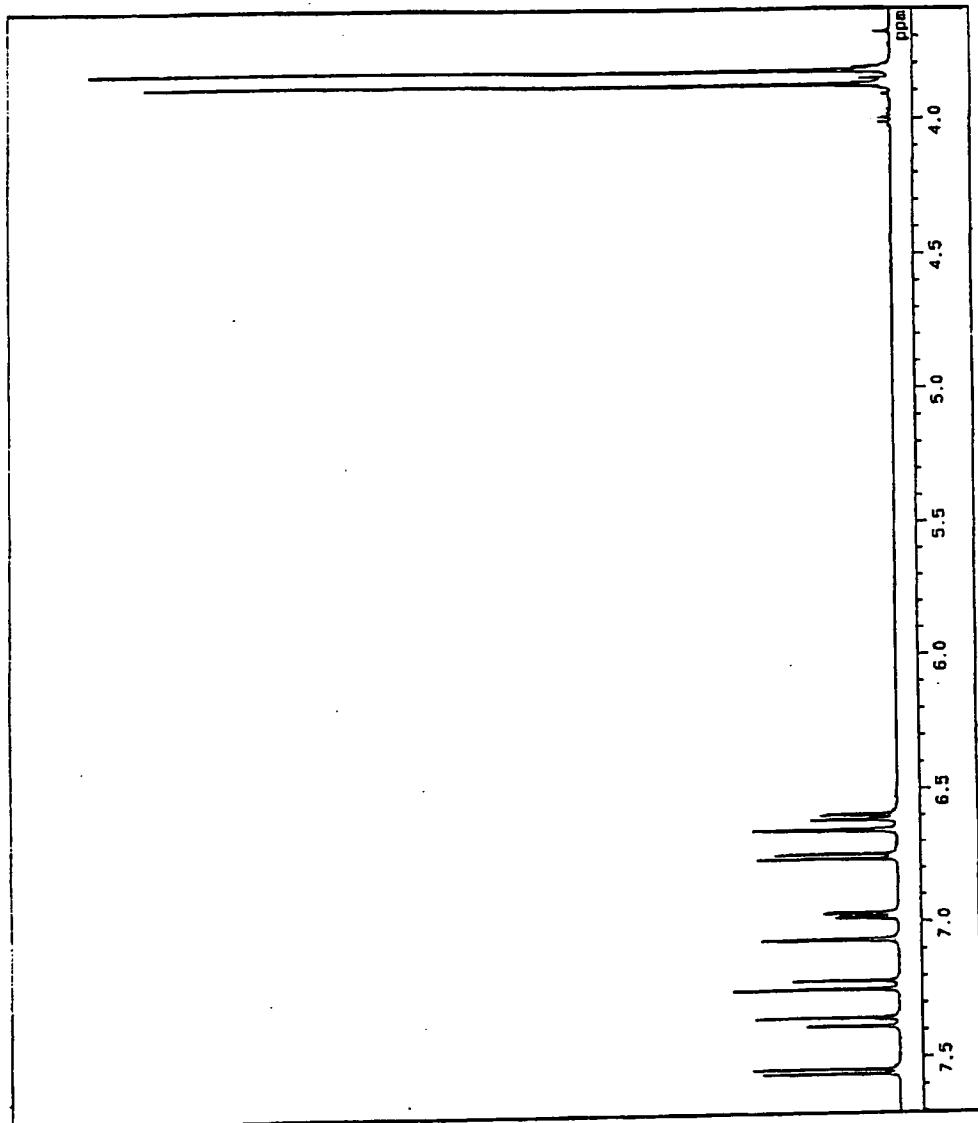
トリエチルアミン

第 1 図



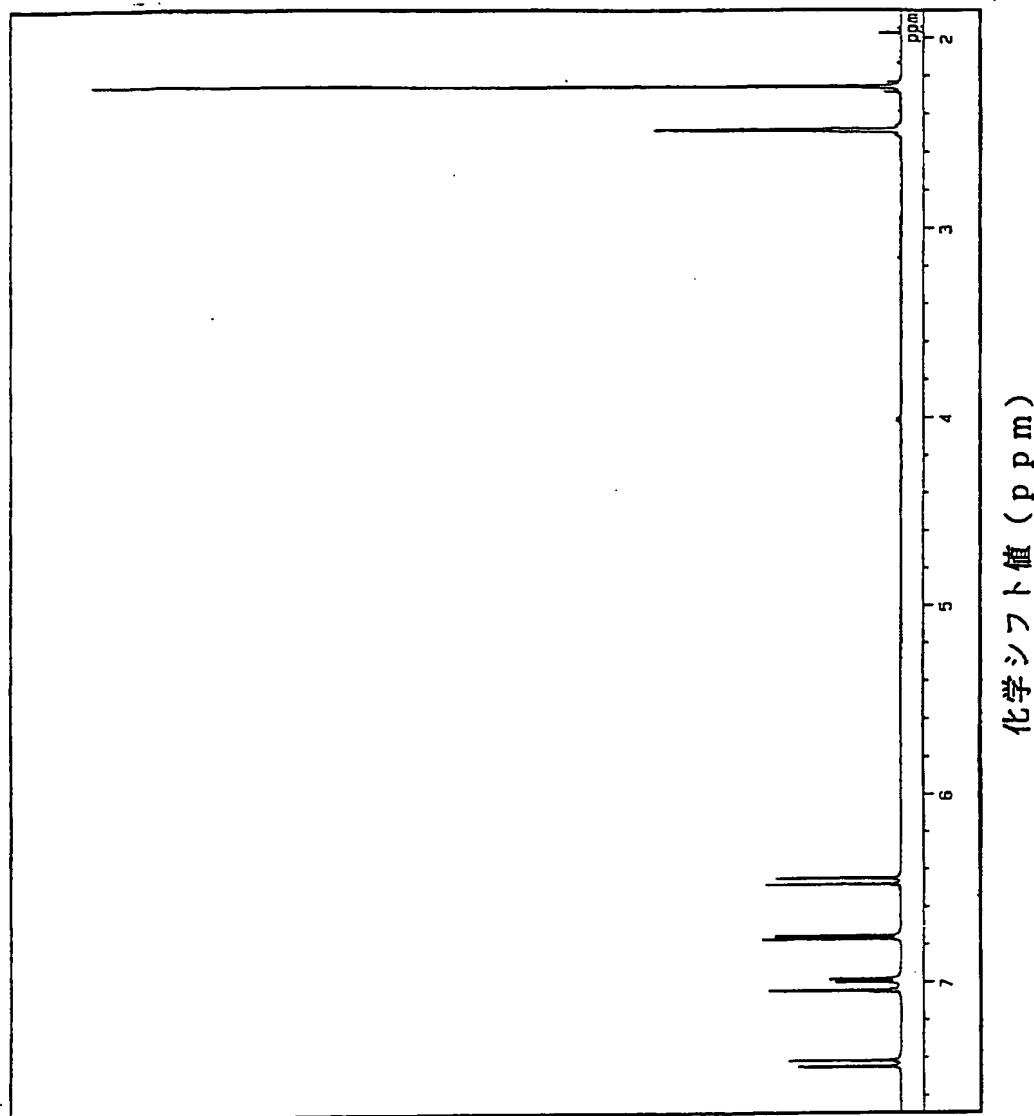
ジメチル酸

第2図



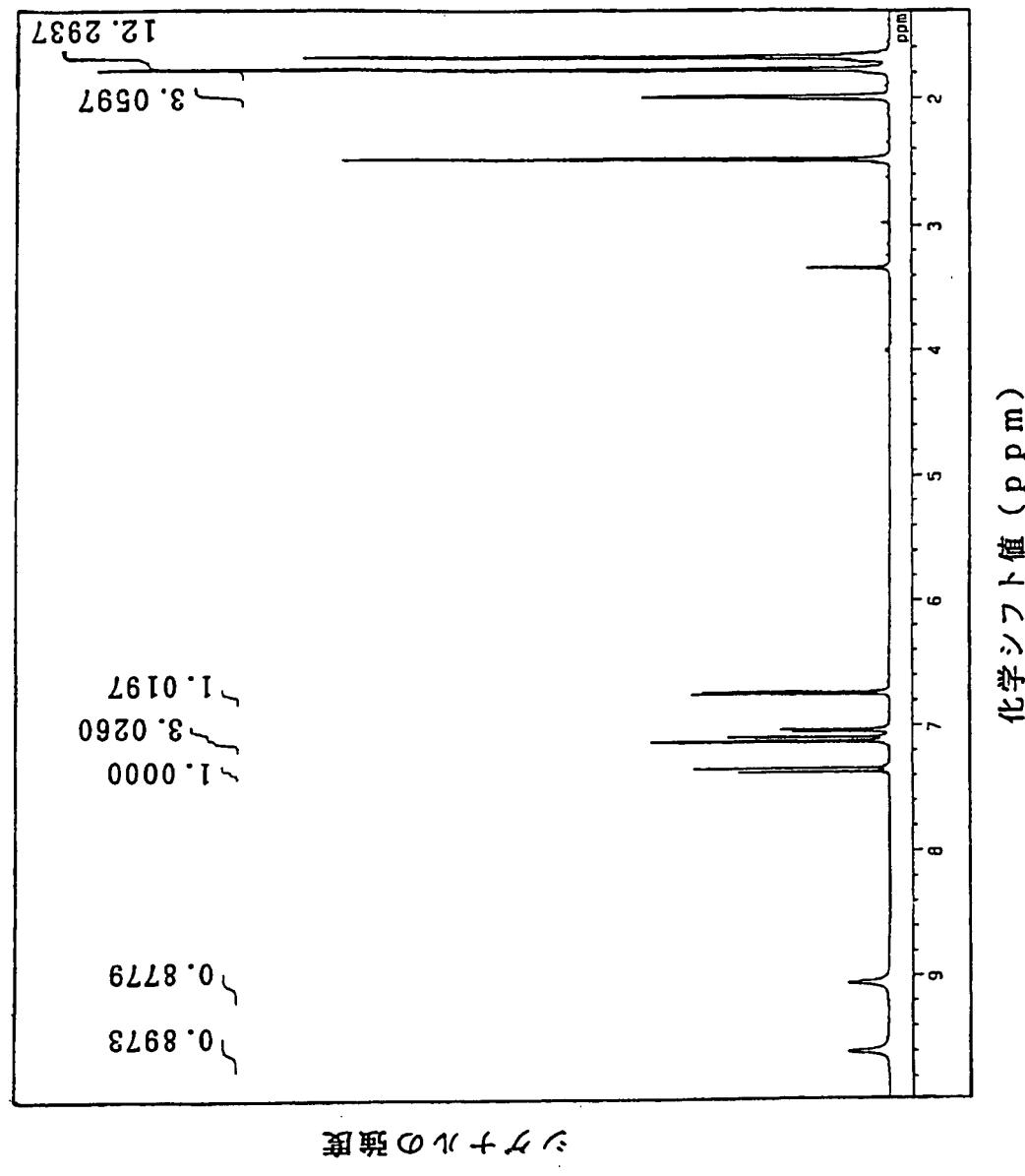
シグナルの強度

第3図

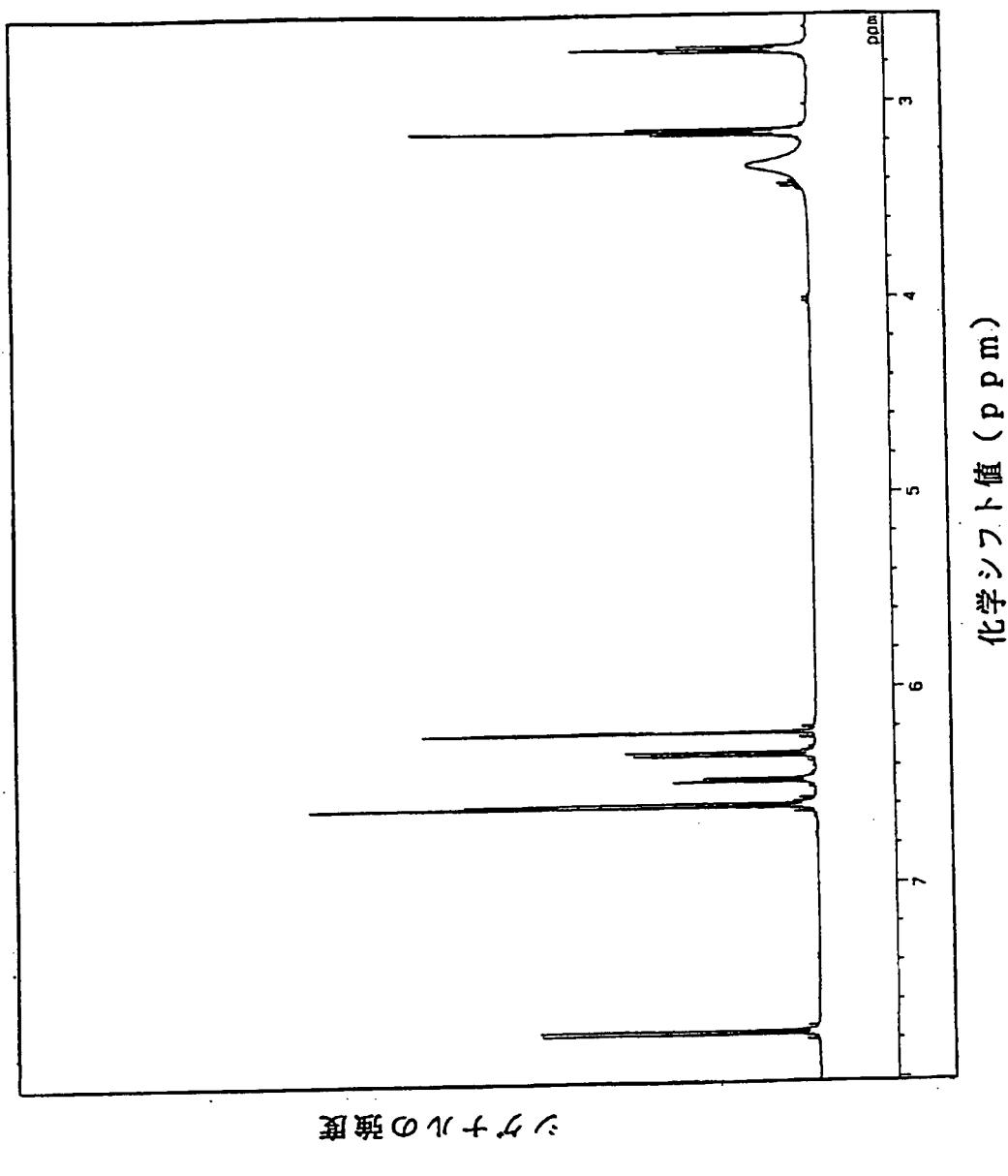


元素分析結果

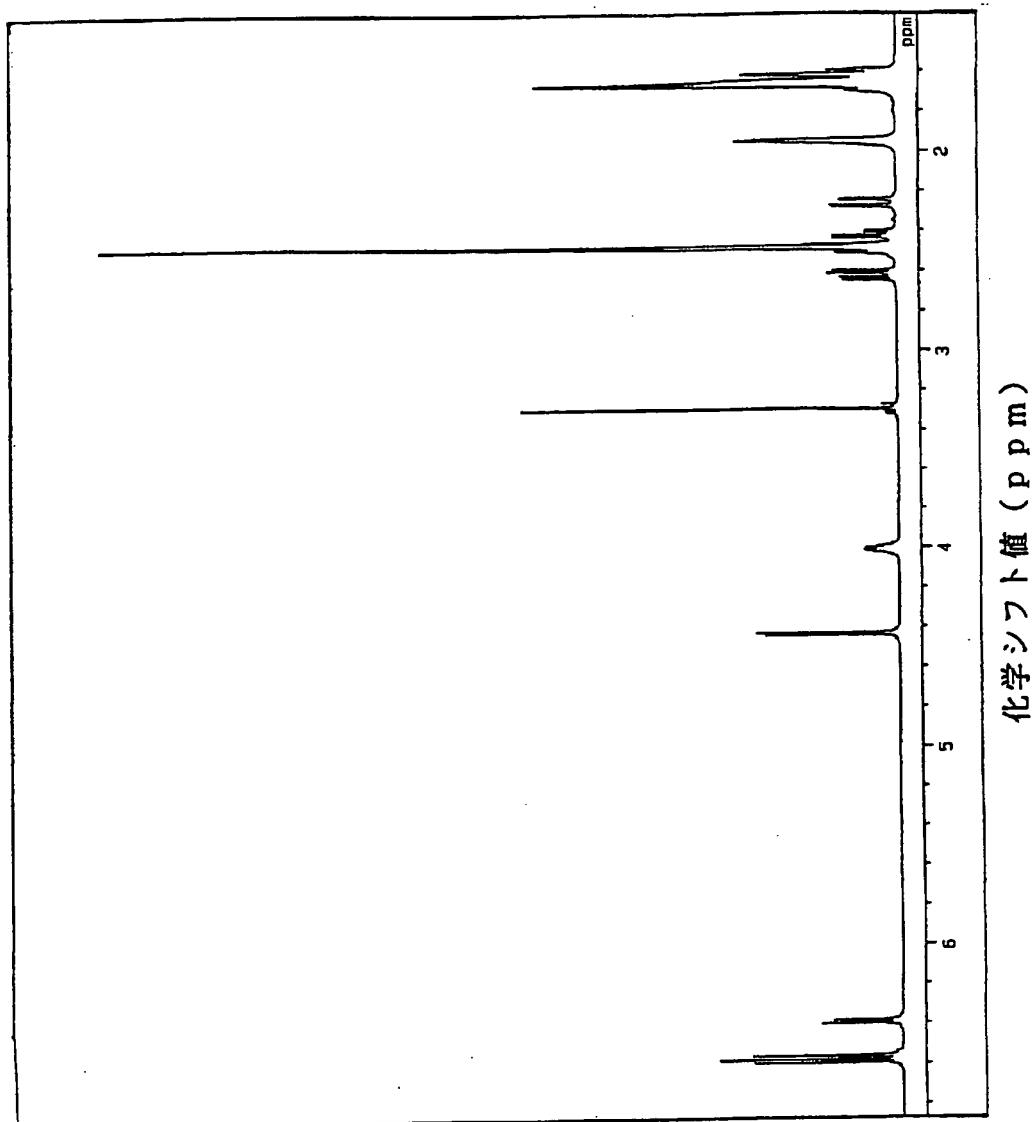
第 4 図



第 5 図

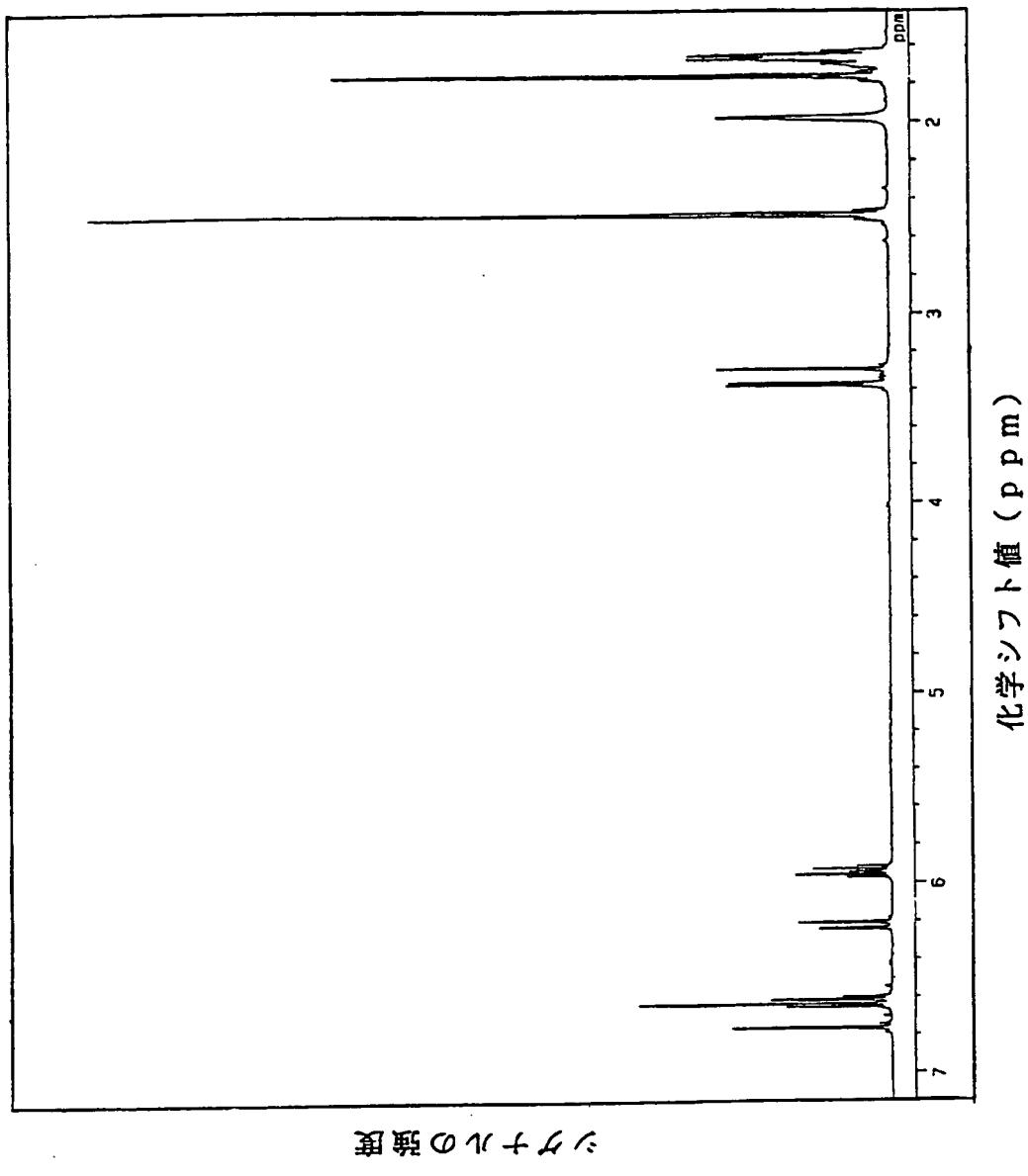


第 6 図

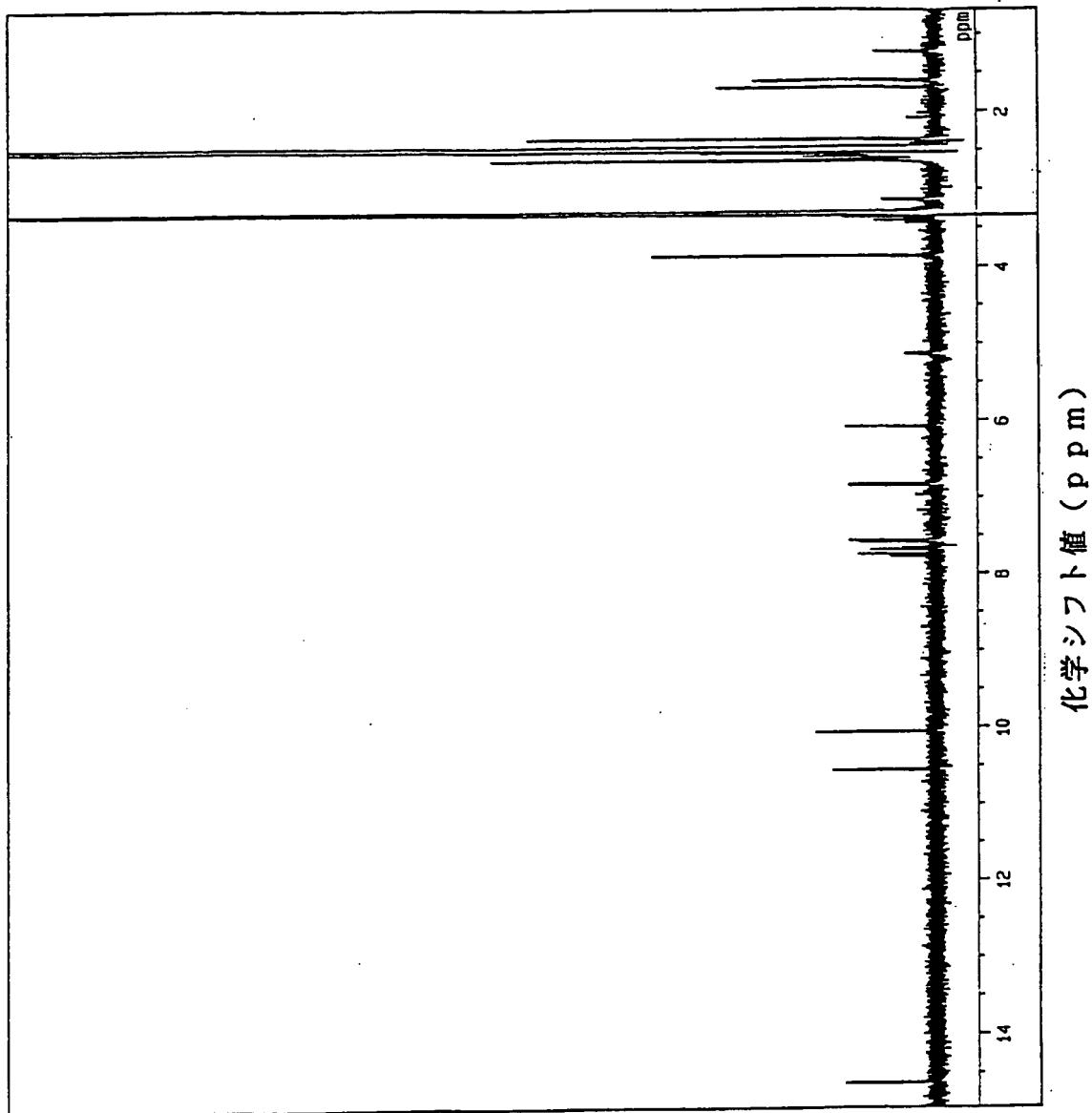


アミドの強度

第 7 図



第 8 図



八九〇強度

第9図

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP01/00513

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl⁷ A61K31/12, 31/216, 31/352, 31/7004, A61P25/00, 25/28, 9/10, 43/00, A23L1/30, C07C49/83, 49/255, 49/84, 49/573, 69/12

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl⁷ A61K31/12, 31/216, 31/352, 31/7004, A61P25/00, 25/28, 9/10, 43/00, A23L1/30, C07C49/83, 49/255, 49/84, 49/573, 69/12

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CAPLUS (STN), MEDLINE (STN), EMBASE (STN)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	JP, 5-78384, A (Taisho Pharmaceutical Co., Ltd.), 30 March, 1993 (30.03.93), (Family: none)	1,4,5
A	& Database CAPLUS on STN, American Chemical Society (ACS), (Columbus, OH, USA), DN.119:80203	2
A	US, 5059627, A (Takeda Chemical Industries, Ltd.), 22 October, 1991 (22.10.91), & JP, 3-81218, A & Database CAPLUS on STN, American Chemical Society (ACS), (Columbus, OH, USA), DN.116:733	1,2,4,5
A	KOUROUNAKIS, Angeliki et al., 'Quantitative structure activity relationships of catechol derivatives on nerve growth factor secretion in L-M cells.' Pharm. Res., 1995, Vol. 12, No. 8, pages 1199 to 1204, & Database CAPLUS on STN, American Chemical Society (ACS), (Columbus, OH, USA), DN.123:217704	1,2,4,5



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"E" earlier document but published on or after the international filing date	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	"&" document member of the same patent family
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	

Date of the actual completion of the international search
19 April, 2001 (19.04.01)Date of mailing of the international search report
01 May, 2001 (01.05.01)Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP01/00513

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	JP, 5-246932, A (Nippon High Potsukusu K.K.), 24 September, 1993 (24.09.93), Especially page 5, example 2 (Family: none) & Database CAPLUS on STN, American Chemical Society (ACS), (Columbus, OH, USA), DN.120:163698	6
X	JP, 1-125320, A (Tsumura & Co.), 17 May, 1989 (17.05.89), Especially, Claims (Family: none) & Database CAPLUS on STN, American Chemical Society (ACS), Columbus, OH, USA), DN.112:48807	6
X	JP, 1-42422, A (Tsumura & Co.), 14 February, 1989 (14.02.89), Especially, Claims, page 29, lower left column, & WO, 88/04288, A1 & EP, 292576, A1 & US, 5106871, A & US, 5234951, A & JP, 63-150241, A & Database CAPLUS on STN, American Chemical Society (ACS), (Columbus, OH, USA), DN.110:23539	6
Y	JP, 5-61220, A (Ricoh Company, Ltd.), 12 March, 1993 (12.03.93), (Family: none) & Database CAPLUS on STN, American Chemical Society (ACS), (Columbus, OH, USA), DN.119:59688	6
Y	JP, 3-122645, A (Nippon Kanko Shikiso Kenkyusho K.K.), 24 May, 1991 (24.05.91), (Family: none) & Database CAPLUS on STN, American Chemical Society (ACS), (Columbus, OH, USA), DN.116:31463	6
Y	JP, 2-187765, A (Oki Electric Industry Co., Ltd.), 23 July, 1990 (23.07.90), (Family: none) & Database CAPLUS on STN, American Chemical Society (ACS), (Columbus, OH, USA), DN.114:257059	6

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP01/00513**Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)**

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. Claims Nos.: 3
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
Claim 3 pertains to methods for treatment of the human body by therapy and thus relates to a subject matter which this International Searching Authority is not required, under the provisions of Article 17(2)(a)(i) of the PCT and Rule 39.1(iv) of the Regulations under the PCT, to search.
2. Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

(See extra sheet)

1. As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.

No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No:

PCT/JP01/00513

Continuation of Box No. II of continuation of first sheet (1)

The invention as set forth in claim 1 of the present application relates to "remedies or preventives for diseases with a need for the enhancement of the production of nerve growth factor" characterized by containing as the active ingredient at least one compound selected from the group consisting of the compounds represented by the general formula (1) presented therein and pharmacologically acceptable salts thereof.

The invention as set forth in claim 2 of the present application relates to "agents for enhancing the production of nerve growth factor" characterized by containing as the active ingredient at least one compound selected from the group consisting of the compounds represented by the general formula (1) as described above and pharmacologically acceptable salts thereof.

The invention as set forth in claim 4 of the present application relates to "foods, drinks or feeds for enhancing the production of nerve growth factor" characterized by containing as the active ingredient at least one compound selected from the group consisting of the compounds represented by the general formula (1) as described above and pharmacologically acceptable salts thereof.

The invention as set forth in claim 4 of the present application relates to use of at least one compound selected from the group consisting of the compounds represented by the general formula (1) as described above and pharmacologically acceptable salts thereof in producing the above-described products.

From the viewpoint of being based on the function mechanism of "the enhancement of the production of nerve growth factor", these inventions can be considered as a group of inventions so linked as to form a single general inventive concept.

On the other hand, the inventions as set forth in claim 6 in the present application relate respectively to compounds per se which fall within the category of the compounds represented by the above general formula (1) from the viewpoint of chemical structure but are extremely restricted. Thus, these inventions do not necessarily relate to the function mechanism of "the enhancement of the production of nerve growth factor".

According to the documents cited in "C. Documents seemingly related", it is recognized that even publicly known compounds are described in claim 6.

Such being the case, the inventions of individual compounds as set forth in claim 6 are not considered as relating to a group of inventions so linked as to form a single general inventive concept, considering the relation with the inventions as set forth in claims 1, 2, 4 and 5.

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl' A61K31/12, 31/216, 31/352, 31/7004, A61P25/00, 25/28, 9/10, 43/00, A23L1/30,
C07C49/83, 49/255, 49/84, 49/573, 69/12

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl' A61K31/12, 31/216, 31/352, 31/7004, A61P25/00, 25/28, 9/10, 43/00, A23L1/30,
C07C49/83, 49/255, 49/84, 49/573, 69/12

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

CAPLUS (STN), MEDLINE (STN), EMBASE (STN)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X A	JP, 5-78384, A (大正製薬株式会社) 30. 3月. 1993 (30. 03. 93) (ファミリーなし) & Database CAPLUS on STN, AMERICAN CHEMICAL SOCIETY (ACS), (Columbus, OH, USA), DN. 119:80203	1, 4, 5 2
A	US, 5059627, A (Takeda Chemical Industries, Ltd.) 22. 10月. 1991 (22. 10. 91) & JP, 3-81218, A & Database CAPLUS on STN, AMERICAN CHEMICAL SOCIETY (ACS), (Columbus, OH, USA), DN. 116:733	1, 2, 4, 5

C欄の続きにも文献が列挙されている。

パテントファミリーに関する別紙を参照。

- * 引用文献のカテゴリー
 - 「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
 - 「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
 - 「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)
 - 「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
 - 「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献
「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
「&」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

19. 04. 01

国際調査報告の発送日

01.05.01

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)
郵便番号 100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

森井 隆信

印 4C 9455

電話番号 03-3581-1101 内線 3451

C (続き) . 関連すると認められる文献		関連する 請求の範囲の番号
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	
A	KOUROUNAKIS, Angeliki et al, 'Quantitative structure activity relationships of catechol derivatives on nerve growth factor secretion in L-M cells.' Pharm. Res., 1995, Vol. 12, No. 8, pages 1199 to 1204 & Database CAPLUS on STN, AMERICAN CHEMICAL SOCIETY (ACS), (Columbus, OH, USA), DN. 123:217704	1, 2, 4, 5
X	JP, 5-246932, A(株式会社日本ハイポックス) 24.9月. 1993(24. 09. 93) 特に、第5頁実施例2, (ファミリーなし) & Database CAPLUS on STN, AMERICAN CHEMICAL SOCIETY (ACS), (Columbus, OH, USA), DN. 120:163698	6
X	JP, 1-125320, A(株式会社ツムラ) 17.5月. 1989(17. 05. 89) 特に、特許請求の範囲, (ファミリーなし) & Database CAPLUS on STN, AMERICAN CHEMICAL SOCIETY (ACS), (Columbus, OH, USA), DN. 112:48807	6
X	JP, 1-42422, A(株式会社津村順天堂) 14.2月. 1989(14. 02. 89) 特に、特許請求の範囲及び第29頁左下欄, & WO, 88/04288, A1 & EP, 292576, A1 & US, 5106871, A & US, 5234951, A & JP, 63-150241, A & Database CAPLUS on STN, AMERICAN CHEMICAL SOCIETY (ACS), (Columbus, OH, USA), DN. 110:23539	6
Y	JP, 5-61220, A(株式会社リコー) 12.3月. 1993(12. 03. 93) (ファミリーなし) & Database CAPLUS on STN, AMERICAN CHEMICAL SOCIETY (ACS), (Columbus, OH, USA), DN. 119:59688	6
Y	JP, 3-122645, A(株式会社日本感光色素研究所) 24.5月. 1991(24. 05. 91) (ファミリーなし) & Database CAPLUS on STN, AMERICAN CHEMICAL SOCIETY (ACS), (Columbus, OH, USA), DN. 116:31463	6
Y	JP, 2-187765, A(沖電気工業株式会社) 23.7月. 1990(23. 07. 90) (ファミリーなし) & Database CAPLUS on STN, AMERICAN CHEMICAL SOCIETY (ACS), (Columbus, OH, USA), DN. 114:257059	6

第I欄 請求の範囲の一部の調査ができないときの意見（第1ページの2の続き）

法第8条第3項（PCT17条(2)(a)）の規定により、この国際調査報告は次の理由により請求の範囲の一部について作成しなかった。

1. 請求の範囲 3 は、この国際調査機関が調査をすることを要しない対象に係るものである。つまり、請求の範囲 3 は、治療による人体の処置方法に該当し、PCT17条(2)(a)(i)及びPCT規則39(iv)の規定により、この国際調査機関が調査をすることを要しない対象に係るものである。
2. 請求の範囲 は、有意義な国際調査をできる程度まで所定の要件を満たしていない国際出願の部分に係るものである。つまり、
3. 請求の範囲 は、従属請求の範囲であってPCT規則6.4(a)の第2文及び第3文の規定に従って記載されていない。

第II欄 発明の単一性が欠如しているときの意見（第1ページの3の続き）

次に述べるようにこの国際出願に二以上の発明があるとこの国際調査機関は認めた。

（別紙参照。）

1. 出願人が必要な追加調査手数料をすべて期間内に納付したので、この国際調査報告は、すべての調査可能な請求の範囲について作成した。
2. 追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求の範囲について調査することができたので、追加調査手数料の納付を求めなかった。
3. 出願人が必要な追加調査手数料を一部のみしか期間内に納付しなかったので、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求の範囲のみについて作成した。
4. 出願人が必要な追加調査手数料を期間内に納付しなかったので、この国際調査報告は、請求の範囲の最初に記載されている発明に係る次の請求の範囲について作成した。

追加調査手数料の異議の申立てに関する注意

追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあった。
 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがなかった。

第II欄 発明の単一性が欠如しているときの意見 の続き

本願の請求の範囲1記載の発明は、そこに記載される一般式(1)で表される化合物及び薬理学的に許容されるそれらの塩からなる群より選択される少なくとも1種の化合物を有効成分として含有することを特徴とする「神経成長因子産生増強を必要とする疾患の治療剤又は予防剤」である。

本願の請求の範囲2記載の発明は、上記一般式(1)で表される化合物及び薬理学的に許容されるそれらの塩からなる群より選択される少なくとも1種の化合物を有効成分として含有することを特徴とする「神経成長因子産生増強剤」自体である。

本願の請求の範囲4記載の発明は、上記一般式(1)で表される化合物及び薬理学的に許容されるそれらの塩からなる群より選択される少なくとも1種の化合物を有効成分として含有することを特徴とする「神経成長因子産生増強用食品、飲料又は飼料」である。

本願の請求の範囲4記載の発明は、上記一般式(1)で表される化合物及び薬理学的に許容されるそれらの塩からなる群より選択される少なくとも1種の化合物の上記各物品の製造における使用に関するものである。

これらは、いずれも「神経成長因子産生増強」という作用機序に基づくものという点において、单一の一般的発明概念を形成するように連関している一群の発明には当たるものといえる。

一方、本願の請求の範囲6記載の発明は、化学構造としては上記一般式(1)で表される化合物の範疇に含まれるものではあるものの、そのうちよりごく限られた一部の化合物 자체であって、発明として必ずしも「神経成長因子産生増強」という作用機序に関連するものではない。

なお、「C. 関連すると認められる文献」において記載した文献によれば、請求の範囲6には公知のものさえ記載されているものと認められる。

したがって、請求の範囲6に記載される個々の化合物発明は、いずれも上記請求の範囲1, 2, 4及び5記載の発明との関係において、单一の一般的発明概念を形成するように連関している一群の発明には当たらない。

MicroPatent's Patent Index Database: [Complete Family of WO2001054682A1]

6 record(s) found in the family

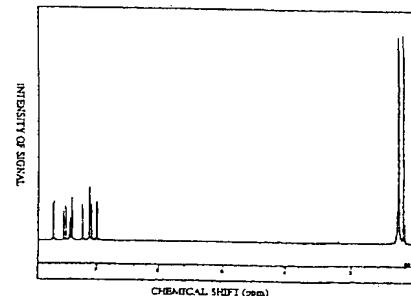
US 2003144316 A1 (see page 4/7).

 Order Selected Patent(s)

[no drawing available]

AU2882501A □ 20010807**Title:** (ENG) Remedies**Application Number:** AU 2882501 D**Application (Filing) Date:** 20010126**Priority Data:** JP 2000019208 20000127 A X; JP 2000019331 20000127 A X; JP 2000254683 20000824 A X; JP 2000308519 20001006 A X; JP 0100513 20010126 W V;**Inventor(s):** OHNOGI HIROMU ; SHIRAGA MASAHIRO ; KOBAYASHI EIJI ; LI TUO-PING ; DEGUCHI SUZU ; NISHIYAMA EIJI ; SAGAWA HIROAKI ; KATO IKUNOSHIN**Assignee/Applicant/Grantee:** TAKARA SHUZO CO**Original IPC (1-7):** A61K03112; A61K031216; A61K031352; A61K0317004; A61P02500; A61P02528; A61P00910; A61P04300; A23L00130; C07C04983; C07C049255; C07C04984; C07C049573; C07C06912**Other Abstracts for Family Members:** DERABS C2001-570460**Legal Status:** There is no Legal Status information available for this patent

[no drawing available]

CN1419448A □ 20030521**Title:** (ENG) Remedies**Application Number:** CN 01807329 A**Application (Filing) Date:** 20010126**Priority Data:** JP 2000019208 20000127 A ; JP 2000019331 20000127 A ; JP 2000254683 20000824 A ; JP 2000308519 20001006 A ;**Inventor(s):** HIROMU OHNOGI JP ; MASAHIRO SHIRAGA JP ; EIJI KABAYASHI JP**Assignee/Applicant/Grantee:** TAKARA BIO INC JP**Last Modification Date:** 20050315**Original IPC (1-7):** A61K03112; A61K031216; A61K031352; A61K0317004; A61P02500; A61P02528; A61P00910; A61P04300; A23L00130**Legal Status:** There is no Legal Status information available for this patent
 EPO Register
EP1254658A1 □ 20021106 FullText**Title:** (ENG) REMEDIES**Application Number:** EP 01946787 A**Application (Filing) Date:** 20010126**Priority Data:** JP 0100513 20010126 W V; JP 2000019208 20000127 A I; JP 2000019331 20000127 A I; JP 2000254683 20000824 A I; JP 2000308519 20001006 A I;**Inventor(s):** LI TUO-PING JP ; OHNOGI HIROMU JP ; DEGUCHI SUZU JP ; KATO IKUNOSHIN JP ; KOBAYASHI EIJI JP ; NISHIYAMA EIJI JP ; SAGAWA HIROAKI JP ; SHIRAGA MASAHIRO JP**Assignee/Applicant/Grantee:** TAKARA BIO INC JP**Last Modification Date:** 20060424**BEST AVAILABLE COPY**

Original IPC (1-7): A61K03112; A61K031216; A61K031352; A61K0317004; A61P02500; A61P02528; A61P00910; A61P04300; A23L00130; C07C04983; C07C049255; C07C04984; C07C049573; C07C06912

ECLA (European Class): A61K03112; A61K031216; A61K031352; A61K0317004; A23L00130

Designated Countries:

- Designated States: AT BE CH CY DE DK ES FI FR GB GR IE IT LI LU MC NL PT SE TR

Publication Language: ENG

Agent(s): VOSSIUS & PARTNER 00100314 Siebertstrasse 4
81675Muenchen DE

Non-Patent Citations:

- PATENT ABSTRACTS OF JAPAN vol. 018, no. 001 (C-1148), 6 January 1994(1994-01-06) & JP 05 246932 A (NIPPON HIGH POTTSUKUSU:KK), 24September 1993(1993-09-24)
- PATENT ABSTRACTS OF JAPAN vol. 013, no. 372 (C-627), 17 August 1989 (1989-08-17) & JP 01 125320 A (TSUMURA & CO), 17 May 1989 (1989-05-17)
- PATENT ABSTRACTS OF JAPAN vol. 013, no. 233 (C-601), 29 May 1989 (1989-05-29) & JP 01 042422 A (TSUMURA & CO), 14 February 1989 (1989-02-14)
- PATENT ABSTRACTS OF JAPAN vol. 017, no. 372 (P-1573), 13 July 1993 (1993-07-13) & JP 05 061220 A (RICOH CO LTD), 12 March 1993 (1993-03-12)
- PATENT ABSTRACTS OF JAPAN vol. 015, no. 331 (P-1241), 22 August 1991(1991-08-22) & JP 03 122645 A (NIPPON KANKO SHIKISO KENKYUSHO:KK), 24May 1991 (1991-05-24)
- PATENT ABSTRACTS OF JAPAN vol. 014, no. 468 (P-1115), 12 October 1990(1990-10-12) & JP 02 187765 A (OKI ELECTRIC IND CO LTD; OTHERS: 01),23 July 1990 (1990-07-23)
- SRAMEK J J ET AL: "RECENT DEVELOPMENTS IN THE DRUG TREATMENT OF ALZHEIMER'S DISEASE" DRUGS AND AGING, ADIS INTERNATIONAL LTD, NZ, vol. 14,no. 5, 1999, pages 359-373, XP000901933 ISSN: 1170-229X
- PATENT ABSTRACTS OF JAPAN vol. 1999, no. 14, 22 December 1999 (1999-12-22)& JP 11 246398 A (KYOWA HAKKO KOGYO CO LTD;NIKKEN KASEI KK; OSAWATOSHIHIKO), 14 September 1999 (1999-09-14)
- PATENT ABSTRACTS OF JAPAN vol. 1998, no. 10, 31 August 1998 (1998-08-31)& JP 10 114649 A (DOKUTAAZU KOSUMETEIKUSU:KK;POLA CHEM IND INC), 6May 1998 (1998-05-06)
- See also references of WO 0154682A1

Patents Cited:

- US5679716 A X 0
- US5928654 A X 0
- US5059627 A X 0
- EP0998939 A XP 0
- WO0130335 A E 0
- JP5078384 A X 0
- WO0048586 A XP 0
- EP1175907 A E 0
- JP5246932 A 0
- JP1125320 A 0
- JP1042422 A 0
- JP5061220 A 0
- JP3122645 A 0
- JP2187765 A 0
- JP11246398 A 0
- JP10114649 A 0

Legal Status:

Date +/- Code Description
20021106(+)17P REQUEST FOR EXAMINATION FILED Effective date:

20020827;
 20021106(+)AK DESIGNATED CONTRACTING STATES: Kind code of corresponding patent document: A1; AT BE CH CY DE DK ES FI FR GB GR IE IT LI LU MC NL PT SE TR
 20021106(+)AX EXTENSION OF THE EUROPEAN PATENT TO : AL;LT;LV;MK;RO;SI;
 20030122 RIN1INVENTOR (CORRECTION) Inventor name: DEGUCHI, SUZU;
 20030122 RIN1INVENTOR (CORRECTION) Inventor name: KATO, IKUNOSHIN;
 20030122 RIN1INVENTOR (CORRECTION) Inventor name: KOBAYASHI, EIJI;
 20030122 RIN1INVENTOR (CORRECTION) Inventor name: LI, TUO-PING;
 20030122 RIN1INVENTOR (CORRECTION) Inventor name: NISHIYAMA, EIJI;
 20030122 RIN1INVENTOR (CORRECTION) Inventor name: OHNOGI, HIROMU;
 20030122 RIN1INVENTOR (CORRECTION) Inventor name: SAGAWA, HIROAKI;
 20030122 RIN1INVENTOR (CORRECTION) Inventor name: SHIRAGA, MASAHIRO;
 20030618(+)A4 SUPPLEMENTARY SEARCH REPORT Effective date: 20030505;
 20040114(+)17Q FIRST EXAMINATION REPORT Effective date: 20031201;

Additional Information:

- Date of request for examination 20020827
- Date of dispatch of first examination report 20031201
- Patent bulletin/ gazette information 20040114 200403
- Date of drawing up and dispatch of supp. search report(A4) 20030505
- Figure number on first (title) page, abstract drawing NONE
- PCT application data JP2001000513 20010126 JPN
- PCT publication data WO2001054682 20010802 200131

EPO Register**EP1254658A4** **20030618** FullText**Title:** (ENG) REMEDIES**Application Number:** EP 01946787 A**Application (Filing) Date:** 20010126**Priority Data:** JP 0100513 20010126 W V; JP 2000019208 20000127 A I; JP 2000019331 20000127 A I; JP 2000254683 20000824 A I; JP 2000308519 20001006 A I;**Inventor(s):** LI TUO-PING JP ; OHNOGI HIROMU JP ; DEGUCHI SUZU JP ; KATO IKUNOSHIN JP ; KOBAYASHI EIJI JP ; NISHIYAMA EIJI JP ; SAGAWA HIROAKI JP ; SHIRAGA MASAHIRO JP**Assignee/Applicant/Grantee:** TAKARA BIO INC JP**Last Modification Date:** 20060424**Original IPC (1-7):** A61K03112; A61K031216; A61K031352; A61K0317004; A61P02500; A61P02528; A61P00910; A61P04300; A23L00130; C07C04983; C07C049255; C07C04984; C07C049573; C07C06912**ECLA (European Class):** A61K03112; A61K031216; A61K031352; A61K0317004; A23L00130**Designated Countries:**

- Designated States: AT BE CH CY DE DK ES FI FR GB GR IE IT LI LU MC NL PT SE TR

Publication Language: ENG**Agent(s):** VOSSIUS & PARTNER 00100314 Siebertstrasse 4 81675Muenchen DE**Non-Patent Citations:**

- PATENT ABSTRACTS OF JAPAN vol. 018, no. 001 (C-1148), 6 January 1994(1994-01-06) & JP 05 246932 A (NIPPON HIGH POTSKUSU:KK), 24September 1993 (1993-09-24)
- PATENT ABSTRACTS OF JAPAN vol. 013, no. 372 (C-627), 17 August 1989 (1989-08-17) & JP 01 125320 A (TSUMURA & CO), 17 May 1989 (1989-05-17)
- PATENT ABSTRACTS OF JAPAN vol. 013, no. 233 (C-601), 29 May 1989 (1989-05-29) & JP 01 042422 A (TSUMURA & CO), 14 February 1989 (1989-02-14)

- PATENT ABSTRACTS OF JAPAN vol. 017, no. 372 (P-1573), 13 July 1993 (1993-07-13) & JP 05 061220 A (RICOH CO LTD), 12 March 1993 (1993-03-12)
- PATENT ABSTRACTS OF JAPAN vol. 015, no. 331 (P-1241), 22 August 1991(1991-08-22) & JP 03 122645 A (NIPPON KANKO SHIKISO KENKYUSHO:KK), 24May 1991 (1991-05-24)
- PATENT ABSTRACTS OF JAPAN vol. 014, no. 468 (P-1115), 12 October 1990(1990-10-12) & JP 02 187765 A (OKI ELECTRIC IND CO LTD; OTHERS: 01),23 July 1990 (1990-07-23)
- SRAMEK J J ET AL: "RECENT DEVELOPMENTS IN THE DRUG TREATMENT OF ALZHEIMER'S DISEASE" DRUGS AND AGING, ADIS INTERNATIONAL LTD, NZ, vol. 14,no. 5, 1999, pages 359-373, XP000901933 ISSN: 1170-229X
- PATENT ABSTRACTS OF JAPAN vol. 1999, no. 14, 22 December 1999 (1999-12-22)& JP 11 246398 A (KYOWA HAKKO KOGYO CO LTD;NIKKEN KASEI KK; OSAWATOSHIHIKO), 14 September 1999 (1999-09-14)
- PATENT ABSTRACTS OF JAPAN vol. 1998, no. 10, 31 August 1998 (1998-08-31)& JP 10 114649 A (DOKUTAAZU KOSUMETEIKUSU:KK;POLA CHEM IND INC), 6May 1998 (1998-05-06)
- See also references of WO 0154682A1

Patents Cited:

- US5679716 A X 0
- US5928654 A X 0
- US5059627 A X 0
- EP0998939 A XP 0
- WO0130335 A E 0
- JP5078384 A X 0
- WO0048586 A XP 0
- EP1175907 A E 0
- JP5246932 A 0
- JP1125320 A 0
- JP1042422 A 0
- JP5061220 A 0
- JP3122645 A 0
- JP2187765 A 0
- JP11246398 A 0
- JP10114649 A 0

Legal Status:

Date +/- Code Description

20021106(+)17P REQUEST FOR EXAMINATION FILED Effective date: 20020827;

20021106(+)AK DESIGNATED CONTRACTING STATES: Kind code of corresponding patent document: A1; AT BE CH CY DE DK ES FI FR GB GR IE IT LI LU MC NL PT SE TR

20021106(+)AX EXTENSION OF THE EUROPEAN PATENT TO : AL;LT;LV;MK;RO;SI;

20030122 RIN1INVENTOR (CORRECTION) Inventor name: DEGUCHI, SUZU;

20030122 RIN1INVENTOR (CORRECTION) Inventor name: KATO, IKUNOSHIN;

20030122 RIN1INVENTOR (CORRECTION) Inventor name: KOBAYASHI, EIJI;

20030122 RIN1INVENTOR (CORRECTION) Inventor name: LI, TUO-PING;

20030122 RIN1INVENTOR (CORRECTION) Inventor name: NISHIYAMA, EIJI;

20030122 RIN1INVENTOR (CORRECTION) Inventor name: OHNOGI, HIROMU;

20030122 RIN1INVENTOR (CORRECTION) Inventor name: SAGAWA, HIROAKI;

20030122 RIN1INVENTOR (CORRECTION) Inventor name: SHIRAGA, MASAHIRO;

20030618(+)A4 SUPPLEMENTARY SEARCH REPORT Effective date: 20030505;

20040114(+)17Q FIRST EXAMINATION REPORT Effective date: 20031201;

Additional Information:

- Date of request for examination 20020827
- Date of dispatch of first examination report 20031201
- Patent bulletin/ gazette information 20040114 200403
- Date of drawing up and dispatch of supp. search report(A4) 20030505
- Figure number on first (title) page, abstract drawing NONE
n data JP2001000513 20010126 JPN
n data WO2001054682 20010802 200131

US2003144316A1 20030731 FullText (Corresponds to WO 01/54682)

Title: (ENG) Remedies**Abstract:** (ENG)

The present invention provides a therapeutic agent or prophylactic agent for a disease that requires enhancement of nerve growth factor production, an enhancer for nerve growth factor production, or a food, beverage or feed for enhancing nerve growth factor production, each comprising as an effective ingredient a specified compound or a salt

thereof having enhancing activity for nerve growth factor production; a method for enhancing nerve growth factor production, comprising administering to a mammal the above-mentioned compound or a salt thereof; and use of the above-mentioned compound or a salt thereof in the preparation of a therapeutic agent or prophylactic agent for a disease that requires enhancement of nerve growth factor production, an enhancer for nerve growth factor production, or a food, beverage or feed for enhancing nerve growth factor production. In addition, the present invention provides novel compounds having enhancing activity for nerve growth factor production.

Application Number: US 18219302 A

Application (Filing) Date: 20020726

Priority Data: JP 2000019208 20000127 A A; JP 2000019331 20000127 A A; JP 2000254683 20000824 A A;

Inventor(s): LI TUO-PING JP ; OHNOGI HIROMU JP ; DEGUCHI SUZU JP ; KATO IKUNOSHIN JP ; KOBAYASHI EIJI JP ; NISHIYAMA EIJI JP ; SAGAWA HIROAKI JP ; SHIRAGA MASAHIRO JP

Assignee/Applicant/Grantee: OHNOGI HIROMU JP; SHIRAGA MASAHIRO JP; KOBAYASHI EIJI JP; LI TUO-PING JP; DEGUCHI SUZU JP; NISHIYAMA EIJI JP; SAGAWA HIROAKI JP; KATO IKUNOSHIN JP

Last Modification Date: 20040606

Original IPC (1-7): A61K031473

ECLA (European Class): A23L00130; A61K03112; A61K03112; A61K031216; A61K031222; A61K031352; A61K0317004

FIG.1

US Class: 514297

Other Abstracts for This Document: DERABS C2001-570460

Legal Status: There is no Legal Status information available for this patent

Assignments Reported to USPTO:

Reel/Frame: 13308/0236 **Date** **Signed:** 20020703 **Date Recorded:** 20020726

Assignee: TAKARA BIO INC. 4-1, SETA 3-CHOME OTSU-SHI 520-2193 JAPAN

Assignor: DEGUCHI, SUZU; KATO, IKUNOSHIN; KOBAYASHI, EIJI; LI, TUO-PING; NISHIYAMA, EIJI; OHNOGI, HIROMU; SAGAWA, HIROAKI; SHIRAGA, MASAHIRO

Corres. Addr.: BIRCH, STEWART, KOLASCH & BIRCH, LLP MARC S. WEINER P.O. BOX 747 FALLS CHURCH, VA 22040-0747

Brief: ASSIGNMENT OF ASSIGNORS INTEREST (SEE DOCUMENT FOR DETAILS).

Additional Information:

- Figure number on first (title) page, abstract drawing NONE
- Correspondent Address BIRCH STEWART KOLASCH & BIRCH PO BOX 747 FALLS CHURCH VA 22040-0747 US
- PCT application data PCT/JP01/00513 20010126 WO

EPO Register

WO2001054682A1 □ 20010802 FullText

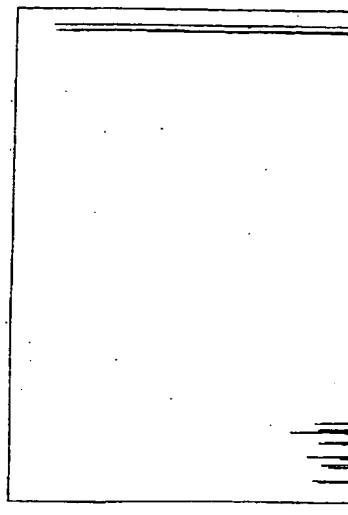
Title: (ENG) REMEDIES

Abstract: (ENG)

Remedies or preventives for diseases with a need for the enhancement of the production of nerve growth factor which contain as the active ingredient specific compounds having an activity of enhancing the production of nerve growth factor or salts thereof, agents for enhancing the production of nerve growth factor, or foods, drinks or feeds for enhancing the production of nerve growth factor; a method of enhancing the production of nerve growth factor which comprises administering the above compounds or salts thereof to mammals; and use of the above compounds or salts thereof in remedies or preventives for diseases with a need for the enhancement of the production of nerve growth factor, agents for enhancing the production of nerve growth factor, or foods, drinks or feeds for enhancing the production of nerve growth factor. Also, novel compounds having an activity of enhancing the production of nerve growth factor are provided.

Application Number: JP 0100513 W

Application (Filing) Date: 20010126



Priority Data: JP 2000019208 20000127 A I; JP 2000019331 20000127 A I; JP 2000254683 20000824 A I; JP 2000308519 20001006 A I;

Inventor(s): LI TUO-PING JP ; OHNOGI HIROMU JP ; DEGUCHI SUZU JP ; KATO IKUNOSHIN JP ; KOBAYASHI EIJI JP ; NISHIYAMA EIJI JP ; SAGAWA HIROAKI JP ; SHIRAGA MASAHIRO JP

Assignee/Applicant/Grantee: LI TUO PING JP; OHNOGI HIROMU JP; DEGUCHI SUZU JP; KATO IKUNOSHIN JP; KOBAYASHI EIJI JP; NISHIYAMA EIJI JP; SAGAWA HIROAKI JP; TAKARA SHUZO CO JP; SHIRAGA MASAHIRO JP

Last Modification Date: 20050526

Original IPC (1-7): A61K03112; A61K031216; A61K031352; A61K0317004; A61P02500; A61P02528; A61P00910; A61P04300; A23L00130; C07C04983; C07C049255; C07C04984; C07C049573; C07C06912

ECLA (European Class): A23L00130; A61K03112; A61K03112; A61K031216; A61K031222; A61K031352; A61K0317004

Designated Countries:

- Designated States: AE AG AL AM AT AU AZ BA BB BG BR BY BZ CA CH CN CR CU CZ DE DK DM DZ EE ES FI GB GD GE GH GM HR HU ID IL IN IS JP KE KG KR KZ LC LK LR LS LT LU LV MA MD MG MK MN MW MX MZ NO NZ PL PT RO RU SD SE SG SI SK SL TJ TM TR TT TZ UA UG US UZ VN YU ZA ZW
- Regional Treaties: GH GM KE LS MW MZ SD SL SZ TZ UG ZW AM AZ BY KG KZ MD RU TJ TM AT BE CH CY DE DK ES FI FR GB GR IE IT LU MC NL PT SE TR BF BJ CF CG CI CM GA GN GW ML MR NE SN TD TG

Publication Language: JAP

Agent(s): HOSODA, Yoshinori c/o Hosoda International Patent Office, Otemae M2Bldg., 8-1, Tanimachi 2-chome, Chuo-ku, Osaka-shi, Osaka 540-0012 JP

Non-Patent Citations:

- DATABASE CAPLUS AEONlineUE AMERICAN CHEMICAL SOCIETY (ACS), (COLUMBUS, OHIO, USA) XP002965185 Retrieved from STN Database accession no.1993:480203 & JP 5 078 384 A (TAISHO PHARMACEUTICAL CO., LTD) 30March 1993
- KOUROUNAKIS ANGELIKI ET AL.: 'Quantitative structure activityrelationships of catechol derivatives on nerve growth factor secretion inL-M cells' PHARM. RES. vol. 12, no. 8, 1995, pages 1199 - 1204,XP002941405 & DATABASE CAPLUS AEONlineUEAMERICAN CHEMICAL SOCIETY (ACS), (COLUMBUS, OHIO, USA) Retrieved from STNDatabase accession no. 123:217704
- DATABASE CAPLUS AEONlineUE AMERICAN CHEMICAL SOCIETY (ACS), (COLUMBUS, OHIO, USA) XP002965186 Retrieved from STN Database accession no.1994:163698 & JP 5 246 932 A (NIPPON HIGH POTUKUSU K.K.) 24September 1993
- DATABASE CAPLUS AEONlineUE AMERICAN CHEMICAL SOCIETY (ACS), (COLUMBUS, OHIO, USA) XP002965187 Retrieved from STN Database accession no.1990:48807 & JP 1 125 320 A (TSUMURA & CO.) 17 May 1989
- DATABASE CAPLUS AEONlineUE AMERICAN CHEMICAL SOCIETY (ACS), (COLUMBUS, OHIO, USA) XP002965188 Retrieved from STN Database accession no.1989:23539 & JP 1 042 422 A (TSUMURA & CO.) 14 February 1989
- DATABASE CAPLUS AEONlineUE AMERICAN CHEMICAL SOCIETY (ACS), (COLUMBUS, OHIO, USA) XP002965189 Retrieved from STN Database accession no.1993:459688 & JP 5 061 220 A (RICOH COMPANY, LTD.) 12 March 1993
- DATABASE CAPLUS AEONlineUE AMERICAN CHMEICAL SOCEITY (ACS), (COLUMBUS, OHIO, USA) XP002965190 Retrieved from STN Database accession no.1992:31463 & JP 3 122 645 A (NIPPON KANKO SHIKISO KENKYUSHO K.K.) 24May 1991
- DATABASE CAPLUS AEONlineUE AMERICAN CHEMICAL SOCIETY (ACS), (COLUMBUS, OHIO, USA) XP002965191 Retrieved from STN Database accession no.1991:257059 & JP 2 187 765 A (OKI ELECTRIC INDUSTRY CO., LTD.) 23July 1990
- See also references of EP 1254658A1

Patents Cited:

- US5059627 A A 0
- JP5078384 A 0
- JP5246932 A 0
- JP1125320 A 0
- JP1042422 A 0
- JP5061220 A 0
- JP3122645 A 0
- JP2187765 A 0

Legal Status:

Date +/- Code Description

20010802(+)AK DESIGNATED STATES Kind code of corresponding patent document: A1; AE AG AL AM AT AU AZ BA BB BG BR BY BZ CA CH CN CR CU CZ DE DK DM DZ EE ES FI GB GD GE GH GM HR HU ID IL IN IS JP KE KG KR KZ LC LK LR LS LT LU LV MA MD MG MK MN MW MX MZ NO NZ PL PT RO RU SD SE SG SI SK SL TJ TM TR TT TZ UA UG US UZ VN YU ZA ZW

20010802(+)AL DESIGNATED COUNTRIES FOR REGIONAL PATENTS Kind code of corresponding patent document:

A1; GH GM KE LS MW MZ SD SL SZ TZ UG ZW AM AZ BY KG KZ MD RU TJ TM AT BE CH CY DE
DK ES FI FR GB GR IE IT LU MC NL PT SE TR BF BJ CF CG CI CM GA GN GW ML MR NE SN TD TG
20010830 DFPREQUEST FOR PRELIMINARY EXAMINATION FILED PRIOR TO EXPIRATION OF 19TH MONTH FROM
PRIORITY DATE (PCT APPLICATION FILED BEFORE 20040101)
20010926 121 EP: THE EPO HAS BEEN INFORMED BY WIPO THAT EP WAS DESIGNATED IN THIS APPLICATION
20020722 ENP ENTRY INTO THE NATIONAL PHASE IN: : JP; Corresponding patent document: 2001 555660;
Kind code of corresponding patent document: A;
20020726 ENP ENTRY INTO THE NATIONAL PHASE IN: : US; Corresponding patent document: 2002 182193;
Publication date of corresponding patent document: 20020726; Kind code of corresponding
patent document: A;
20030116 REG REFERENCE TO NATIONAL CODE : DE; : 8642;



Copyright © 2002, MicroPatent, LLC. The contents of this page are the property of MicroPatent LLC including without limitation all text, html, asp, javascript and xml. All rights herein are reserved to the owner and this page cannot be reproduced without the express permission of the owner.